

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin der
Philipps-Universität Marburg
Klinik für Innere Medizin – Kardiologie
Direktor: Prof. Dr. B. Maisch

Zytokinanalyse in Perikardergüssen

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Alexander Wädlich

aus Neheim-Hüsten

Marburg 2005

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg
am 24.02.2005

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. B. Maisch

Korreferent: Prof. Dr. H. Renz

Meinen Eltern
gewidmet

1. Einleitung	7
1.1. Erkrankungen des Perikards und Perikarderguss	7
1.1.1. Anatomie und Physiologie	7
1.1.2. Ätiologie	7
1.2. Diagnostik perikardialer Ergüsse	8
1.2.1. Konventionelle Verfahren	8
1.2.2. Perikardiozentese	9
1.2.3. Perikardioskopie	9
1.2.4. Untersuchung perikardialer Ergussflüssigkeit	9
1.3. Therapeutische Optionen bei persistierendem Perikarderguss	10
1.4. Immunpathogenese perimyokardialer Entzündungsreaktionen	11
1.5. Zytokine als Mediatoren immunologischer Reaktionen	12
1.5.1. Interleukin-1	12
1.5.2. Interleukin-2 und löslicher Interleukin-2 Rezeptor alpha	13
1.5.3. Interleukin-6	13
1.5.4. Interleukin-8	14
1.5.5. Interleukin-10	14
1.5.6. Tumor Nekrose Faktor alpha	15
1.5.7. Interferon Gamma	15
1.6. Fragestellung	16
2. Patienten und Methode	18
2.1. Methodische Aufarbeitung der Perikardergüsse	18
2.1.1. Molekularbiologische Untersuchungen	18
2.1.2. Immunfluoreszenztest	19
2.1.3. Immunhistochemische Analysen	19
2.1.4. Hämatologische, Histologische und Mikrobiologische Untersuchungen	19
2.2. Verteilung und Zuordnung der Patienten	20
2.2.1. Kontrollseren	22
2.3. Material	23
2.3.1. Geräte	23
2.3.2. Laborbedarf	23

2.3.3.	Probengewinnung und –verarbeitung	24
2.3.4.	Bestimmung der Zytokine	24
2.3.5.	Prinzip der Zytokinbestimmung	25
2.3.5.1.	Bestimmung von IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-10, IFN- γ und TNF- α	25
2.3.5.2.	Bestimmung von IL-8 und IL-2 sR α	27
2.3.6.	Untersuchungen zur Zytokinstabilität	27
2.4.	<i>Statistische Auswertung der Ergebnisse</i>	28
3.	<i>Ergebnisse</i>	29
3.1.	<i>Untersuchungen zur Zytokinstabilität</i>	29
3.2.	<i>Gruppe 1: Patienten mit maligner Grunderkrankung</i>	32
3.3.	<i>Gruppe 2: Patienten mit infektiöser Ergussätiologie</i>	34
3.4.	<i>Gruppe 3: Patienten mit autoreaktivem/entzündlichem Perikarderguss</i>	35
3.5.	<i>Weitere Patienten</i>	37
3.6.	<i>Ergebnisse der Zytokinbestimmungen in Perikardergüssen und Seren</i>	39
3.6.1.	IL-1 α Bestimmungen	40
3.6.2.	IL-2 Bestimmungen	43
3.6.3.	IL-6 Bestimmungen	46
3.6.4.	IL-8 Bestimmungen	49
3.6.5.	IL-10 Bestimmung	54
3.6.6.	TNF- α Bestimmungen	57
3.6.7.	IFN- γ Bestimmungen	60
3.6.8.	IL-2 sR α Bestimmungen	63
4.	<i>Diskussion</i>	67
4.1.	<i>Hintergrund</i>	67
4.2.	<i>Diskussion der Methoden</i>	68
4.2.1.	Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)	68
4.2.2.	Lagerungsstabilität der Zytokine	68
4.3.	<i>Diskussion der Ergebnisse</i>	69
4.3.1.	Interleukin-1 α	70
4.3.2.	Interleukin-2	71

4.3.3.	Interleukin-6	72
4.3.4.	Interleukin-8	73
4.3.5.	Interleukin-10	73
4.3.6.	TNF- α	74
4.3.7.	IFN- γ	75
4.3.8.	IL-2 sR α	76
4.4.	Schlussfolgerung	78
4.4.1.	Kategorisierungsversuch der Zytokinmuster bei Perikardergüssen	78
4.4.1.1.	Pro- versus antiinflammatorische Zytokinantwort	78
4.4.1.2.	Th0-, Th1- oder Th2-Antwort	81
5.	Zusammenfassung	85
6.	Literaturverzeichnis	87
7.	Anhang	99
7.1.	Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	99
7.2.	Danksagung	99

1. Einleitung

1.1. Erkrankungen des Perikards und Perikarderguss

Eine Perikarditis bezeichnet isoliert oder sekundär auftretende Entzündungen des Herzbeutels, wobei aus klinischer Sicht akute, chronische und chronisch-konstriktive Formen abgegrenzt werden. Die Entzündung des Perikards kann als fibrinöse oder exsudative Form oder als Hämoperikard in Erscheinung treten.

1.1.1. Anatomie und Physiologie

Das menschliche Perikard besteht aus zwei verschiedenen Teilen, dem sog. *viszeralen Blatt*, welches dem Herzmuskel unmittelbar anliegt, und dem *parietalen, äußeren Blatt*. In beiden Teilen findet sich der für das Perikard typische, zweischichtige histologische Aufbau mit einer äußeren, aus kollagenen und elastischen Fasern bestehenden Schicht und einer inneren, zum Perikardlumen gerichteten serösen Schicht, die durch Mesothelzellen gebildet wird. Im zwischen den beiden Perikardblättern verbleibenden Raum befinden sich physiologischerweise ca. 15 bis 50 ml einer klaren Flüssigkeit, einem Ultrafiltrat des Blutplasmas (*Gibson et al 1978*).

1.1.2. Ätiologie

Es gibt viele verschiedene Ursachen für Erkrankungen des Perikards und ebenso groß ist die Anzahl von Ursachen, die zu einem Perikarderguss führen. Es ist sinnvoll, diese nach ätiologischen Gesichtspunkten zu klassifizieren. Die ätiologische Klassifizierung der Perikarditis mit konsekutivem Perikarderguss umfasst: *infektiöse Perikarditiden* im Rahmen viraler und bakterieller Infektionen sowie durch Pilze oder Parasiten, *nicht-infektiöse Perikarditiden* wie z.B. Perikarditis bei *malignen Erkrankungen* (primäre oder sekundäre Neoplasien des Perikards), bei *Kollagenkrankheiten* (z.B. Lupus erythematoses disseminatus, rheumatoide Arthritis, Sklerodermie etc.), Perikarditis bei *Miterkrankung von Nachbarorganen* (z.B. nach Myokardinfarkt, Myokarditis, Lungen-erkrankungen, Ösophaguserkrankungen), Perikarditis bei *Stoffwechselerkrankungen bzw. -entgleisungen* (z.B. *Urämie bei Niereninsuffizienz, diabet. Ketoazidose, Myxödem, Cholesterinperikarditis*) sowie die *traumatische Perikarditis* (z.B. nach Thoraxtrauma,

penetrierenden Verletzungen, Ösophagusperforation, nach Bestrahlungen etc.) und Perikarditiden *bei Überempfindlichkeitsreaktionen oder Autoimmunerkrankungen* (z.B. Postmyokardinfarktsyndrom (Dressler-Syndrom) sowie das Postperikardiotomie-syndrom nach thoraxchirurgischen Eingriffen).

Perikarditiden und Perikardergüsse treten, wie oben gezeigt, im Rahmen vieler verschiedenen Grunderkrankungen auf, werden jedoch häufig in ihrer klinischen Symptomatik durch die Symptome der Grundkrankheit überdeckt und treten daher klinisch nicht Erscheinung. Angaben über die Häufigkeiten von verschiedenen Formen der Perikarditis sind daher mit einiger Unsicherheit belastet. Fest steht jedoch, dass eine Diskrepanz zwischen der Häufigkeit klinisch diagnostizierter Perikarditiden (Diagnosestellung bei ca. 0,1% bis 1% aller Patienten) und autopsisch gesicherten Perikarditiden besteht, deren Häufigkeit im Sektionsgut mit 0,1% bis 12% angegeben wird (*Grunow et al 2000, Karjalainen et al 1999, Salefsky 1974, Anand et al 1966*).

1.2. Diagnostik perikardialer Ergüsse

1.2.1. Konventionelle Verfahren

In der klinischen Routinediagnostik erfolgt der Nachweis und die Abschätzung der Größe perikardialer Ergüsse in der Regel durch die Echokardiographie, wobei sich die von *Horowitz et al 1974* vorgeschlagene Einteilung bewährt hat. Bediente man sich in der in Zeit vor der klinischen Einführung der Echokardiographie noch indirekter Nachweismethoden perikardialer Ergüsse durch Auswertung konventioneller Röntgenthorax-Aufnahmen wie z.B. von *Holt 1947, Kremens 1955 und Torrance 1955* beschrieben, so stehen heutzutage dem Untersucher neben Echokardiographie, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) eine Vielzahl weiterer Methoden zur Verfügung, die Ursache perikardialer Ergüsse zu klären.

Durch Verbesserung der bildgebenden Verfahren und Einführung molekularbiologischer, immunologischer und immunhistochemischer Methoden konnte die Diagnostik perikardialer Erkrankungen erheblich verbessert und erweitert werden.

1.2.2. Perikardiozentese

Neue Techniken der Perikardiozentese ermöglichen einen sicheren Zugang zum Perikard und erlauben eine für den Patienten risikoarme Entlastung eines perikardialen Ergusses. Die Punktion des Perikards erfolgt in Lokalanästhesie über verschiedene Zugangswege wie z.B. über einen subxiphoidalen oder auch parasternalen Zugang unter Durchleuchtung, echokardiographischer (*Tsang et al 1999*) oder unter CT-gesteuerter Kontrolle (*Duvernoy et al 1996*). Neue, alternative Möglichkeiten der Perikardiozentese wie z.B. die tangentielle Punktion des Perikards unter Zuhilfenahme des epikardialen Halophänomens oder die Perikardpunktion über den rechten Ventrikel (*Maisch et al 2000, Ristic et al 1999, Seferovic et al 1999*) erweitern das Spektrum der zur Verfügung stehenden Methoden.

1.2.3. Perikardioskopie

In der Zeit vor der Einführung der Perikardioskopie in die klinische Diagnostik stand nur dem Pathologen oder dem Chirurgen die Möglichkeit der makroskopischen Betrachtung des Perikards offen. Erst die Perikardioskopie ermöglichte einen wenig invasiven Einblick in perikardiale und epikardiale Veränderung im Rahmen entzündlicher oder maligner (peri)kardialer Erkrankungen und erlaubte erstmals eine gezielte Biopsientnahme verdächtiger Läsionen unter visueller Kontrolle (*Maisch et al 1991 und 1994, Kondos et al 1986*), wodurch der diagnostische Wert der Biopsien deutlich erhöht wurde (*Seferovic et al 2000*). Bezüglich der technischen Durchführung der Perikardioskopie und ihrer Weiterentwicklung sei an dieser Stelle auf die Arbeiten von *Maisch et al 1991, 1994 und 2000* sowie von *Seferovic et al 2000* verwiesen.

1.2.4. Untersuchung perikardialer Ergussflüssigkeit

Bei Anwendung konventioneller zytologischer, mikrobiologischer und klinisch-chemischer Untersuchungsverfahren perikardialer Ergüsse ist es bei weitem nicht in allen Fällen möglich, eine spezifische Diagnose bezüglich der zugrundeliegenden ergussauslösenden Ursache zu stellen, wie groß angelegte Untersuchungen von *Permanyer-Miralda et al 1985* zeigen. Durch erweiterte Maßnahmen konnte die diagnostische Wertigkeit perikardialer Ergüsse und Biopsate verbessert werden. Durch molekularbiologische Methoden (Polymerasekettenreaktion, PCR) ist es möglich, Gensegmente eines

spezifischen Erregers nachzuweisen, immunologische Methoden wie die Immunfluoreszenz zum Nachweis kardialer Autoantikörper und immunhistochemische Methoden zum Nachweis bestimmter zellmembrangebundener Epitope von Zellen des Immunsystems verbessern das Verständnis der Pathophysiologie, Pathogenese und Immunpathologie perikardialer Entzündungsreaktionen (*Maisch et al 1994 und 1999*).

1.3. Therapeutische Optionen bei persistierendem Perikarderguss

Neoplastische und autoreaktive Perikarditiden gehen nicht selten mit Perikarderguss und Perikardtamponade einher. Eine therapeutische Entlastung durch perkutane ultraschall- oder durchleuchtungskontrollierte Perikardpunktion wird in der Regel vom Patienten gut toleriert und ist mit einem, auch für den schwer kranken Patienten, nur sehr geringen Risiko behaftet (*Tsang et al 1998 und 2000, Fagan 1999*). Allerdings werden nach der Ergusspunktion häufig Rezidive beobachtet, bei neoplastischen Ergüssen in bis zu 40% der Fälle (*Celermajer et al 1991, Vaitkus et al 1994, DeCamp et al 1997*).

Die verbesserten diagnostischen Möglichkeiten perikardialer Erkrankungen eröffnen spezifische therapeutische Optionen.

Für *neoplastische* Perikardergüsse stehen im Wesentlichen drei alternative Vorgehensweisen zur Verfügung:

- Perikardiozentese und intraperikardiale Instillation von Substanzen mit sklerosierender und zytostatischer Wirkung (z.B. Cisplatin, Thiotepa (Triäthylenphosphoramid))
 - Perkutane Ballonperikardiotomie
 - Operative Perikardfensterung
- } jeweils mit begleitender systemischer Chemotherapie

Allgemeine Empfehlungen zur Therapie maligner Perikardergüsse existieren zur Zeit nicht, jedoch scheint die Perikardiozentese mit anschließender intraperikardialer Medikamenteninstillation ein für den Patienten schonendes und effektives Verfahren mit geringer Rezidiv- und Komplikationsrate darzustellen. Eine Übersicht zum Vorgehen bei malignem Perikarderguss geben *Martinoni et al 2000* und *Maisch et al 1999 und 2000*. Die Wirksamkeit der Instillation von Cisplatin (*Maisch et al 2002*) und Thiotepa wird

zur Zeit in einer randomisierten Studie der Taskforce on Pericardial Disease of the World Heart Federation geprüft (NEPIN-Studie (NEPIN=neoplastic effusion and pericardial instillation)).

Die Therapie von *entzündlichen, autoreaktiven* Perikarditiden und Perikardergüssen mit antiinflammatorischen Substanzen wie NSAID (Nichtsteroidale Antiphlogistika wie Diclofenac oder Ibuprofen), Colchicin und Kortikosteroiden wie Prednison oder Prednisolon entspricht zwar der gängigen Praxis, kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudien fehlen jedoch bislang.

Die intraperikardiale Instillation von Kortikosteroiden wurde erstmals 1977 von *Zeman et al* zur Therapie rheumatoider Perikardergüsse beschrieben.

Bei entzündlichen Perikarditiden scheint die Instillation von 1 g Triamcinolon für 24 h nach Perikardiozentese ein wirkungsvoller Ansatz zu sein, da die lokale Kortikoidapplikation die Vorteile der einer hohen lokalen Dosis mit nur geringen bis fehlenden systemischen Nebenwirkungen vereint. Eine Übersicht hierzu geben die Arbeiten von *Maisch et al 1994, 1999, 2000 und 2002*.

Die Wirksamkeit der intraperikardialen Triamcinolongoabe im Rahmen von entzündlichen, autoreaktiven Perikardergüssen wird zur Zeit in einer randomisierten Studie der Taskforce on Pericardial Disease of the World Heart Federation geprüft (TRIPE-Studie (TRIPE= triamcinolone in pericardial effusion, *Maisch et al 2000 und 2002*)).

1.4. Immunpathogenese perimyokardialer Entzündungsreaktionen

Eine entscheidende pathogenetische Relevanz in der Entstehung perimyokardialer Entzündungsreaktionen wird viralen Infektionen zugesprochen, die größte Rolle scheinen hierbei Enteroviren, Adenoviren, Zytomegalieviren sowie Herpesviren zu spielen (*Pankuweit et al 2000*). Zahlreiche Beobachtungen der letzten Jahre konnten zeigen, daß die am myokardialen Gewebe beobachteten zytopathischen Effekte nicht allein auf die virale Infektion selbst, sondern vor allem auch auf immunologische Mechanismen zurückzuführen sind. Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen konnten zeigen, daß sowohl das *humorale* als auch das *zelluläre* Effektorsystem in (auto)immunologische Mechanismen involviert sind und bei der Entstehung und Progredienz perimyokardialer Entzündungen entscheidend beteiligt sind:

Eine Beteiligung des *humoralen* Immunsystems konnte durch den Nachweis von Autoantikörpern gegen verschiedene kardiale Antigene (Proteine des Zytoskeletts (z.B. Myosin), zytoplasmatische (z.B. Stressproteine) und mitochondriale Proteine (z.B. ADP/ATP-Carrier) sowie Membranproteine (z.B. β -Adrenozeptor, ACh-Rezeptor, Ca-Kanal)) gezeigt werden. Eine Kreuzreaktivität zu viralen Epitopen wird bei vielen dieser Antikörper vermutet und ist für antisarkolettale (ASA) und antimyolemmale Antikörper experimentell belegt (*Maisch et al 1993*).

Die Beteiligung des *zellulären* Immunsystems konnte durch immunhistologische Untersuchungen von myokardialen und perikardialen Biospaten nachgewiesen werden: Die Gewebeproben zeigten bei Patienten mit aktiver (Peri)myokarditis Infiltrationen verschiedener T-Zell-Subklassen, NK-Zellen und Makrophagen.

1.5. Zytokine als Mediatoren immunologischer Reaktionen

Zytokine fungieren in allen Phasen immunologischer Reaktionen als Mediatoren sowohl der angeborenen, unspezifischen als auch der spezifischen Immunantwort.

Inwieweit Zytokine an perikardialen Entzündungsreaktionen beteiligt sind, ist bisher unklar. Um das diagnostische Repertoire und das Verständnis der Pathogenese der Mechanismen perikardialer Erkrankungen weiter zu vertiefen, wurden im Rahmen dieser Arbeit die folgenden Zytokine in Perikarderguss und Serum verschiedener Patienten bestimmt:

1.5.1. Interleukin-1

Interleukin-1 (IL-1) ist der Oberbegriff für die proinflammatorischen Zytokine IL-1 α und IL-1 β , welche von verschiedenen Genen codiert werden (*Webb et al 1986*). IL-1 spielt eine wichtige Rolle in der Beeinflussung der Funktionen des Immunsystems. Stimuli für die Synthese bzw. Sekretion von IL-1 α und IL-1 β sind verschiedenste im Rahmen einer Entzündungsreaktion vorkommende Mechanismen, wie z.B. zirkulierende Immunkomplexe, Komponenten des Komplementsystems, virale und bakterielle Proteine (wie z.B. bakterielles Lipopolysaccharid (LPS) (*Dinarelli 1991*)). Ebenso sind Zytokine wie IFN- γ oder TNF- α in der Lage, die Interleukin-1 Synthese zu stimulieren (*Ucla et al 1990*). Die wichtigste Quelle von IL-1 ist der aktivierte mononukleäre Pha-

gozyt, aber auch viele andere Zellen wie z.B. endotheliale Zellen (*Nawroth et al 1986*) sind in der Lage, Interleukin-1 zu produzieren. Es wirkt auf Monozyten/Makrophagen, T- und B-Lymphozyten und NK-Zellen. Bei Monozyten und Makrophagen stimuliert es die Synthese von TNF und IL-6 (*Navarro et al 1989*), es aktiviert T-Zellen durch Induktion einer vermehrten IL-2 und IL-2 sR α Expression (*Kaye et al 1984*). IL-1 induziert mit Zytokinen wie IL-4 die Proliferation und Reifung von B-Zellen und steigert deren Synthese von Immunglobulinen. In Synergismus mit anderen Zytokinen spielt IL-1 eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung von NK-Zellen.

1.5.2. Interleukin-2 und löslicher Interleukin-2 Rezeptor alpha

Interleukin-2 (IL-2) ist ein pleiotropes Zytokin, welches primär von durch Mitogene oder Antigene stimulierten T-Zellen produziert wird. Es stimuliert als *auto-* und *parakriner* Wachstumsfaktor die klonale Expansion antigenspezifischer T-Zellen (*Morgan et al 1976*), die Proliferation und Differenzierung aktivierter B-Lymphozyten, fördert Wachstum, Differenzierung und Verstärkung der zytotoxischen Potenz von Monozyten, induziert das Wachstum von NK-Zellen und verstärkt deren Produktion von Zytokinen und ihr zytolytisches Potenzial (*Goldsmith et al 1994*).

Seine biologischen Wirkungen entfaltet IL-2 über den Interleukin-2 Rezeptor. Man stellt sich den IL-2 Rezeptor Komplex als ein Trimer aus α -, β - und γ -Kette vor (*Teshigawara et al 1987*, *Voss et al 1993*), bei dem alle drei Ketten in Kontakt mit dem Liganden (also IL-2) treten. Es konnte gezeigt werden, daß Konzentrationen der löslichen Form der α -Kette des IL-2 Rezeptors (IL-2 sR α) mit dem Grad der B- und T-Zell-Aktivierung und dem allgemeinen Zustand der Aktivität des Immunsystems korrelieren.

1.5.3. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) ist neben IL-1 herausragendes Beispiel für ein pleiotropes Zytokin (*Kishimoto 1989*), welches unter anderem von T-Zellen, Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Hepatozyten und endothelialen Zellen gebildet wird (*Kishimoto 1989 und 1992*). Die Regulation der IL-6-Produktion in diesen verschiedenen Zellen unterliegt einer großen Vielfalt von Signalen wie z.B. der Induktion durch antigene Stimulation, Mitogenen, Lipopolysacchariden, IL-1, TNF- α und viralen Infektionen. Die Effekte auf B-Zellen bestehen in der Stimulation der Differenzierung und der Sekretion von Anti-

körpern (*Hirano et al 1986*); ebenso wirkt es auf T-Zellen als Co-Stimulator, welcher die Produktion von IL-2 und die Expression des IL-2 Rezeptors steigert. IL-6 verstärkt die Differenzierung von zytotoxischen T-Zellen in Anwesenheit von IL-2 oder IFN- γ (*Lotz et al 1988*). IL-6 stimuliert die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber und hat Kolonie-stimulierende Wirkung auf die Stammzellen des hämatopoetischen Systems (*Akira et al 1993*). Die Stimulation von Endothelzellen, Monozyten, Granulozyten und Thrombozyten durch IL-6 (aber auch durch andere Zytokine wie IL-1, TNF- α , IFN- γ) bewirkt eine Expression von spezifischen Adhäsionsmolekülen auf der Zelloberfläche (*Springer 1990, Ward et al 1994*).

1.5.4. Interleukin-8

Interleukin-8 (IL-8) gehört zu einer Subgruppe von Zytokinen, der Gruppe der Chemokine und ist ein potenter chemotaktischer und aktivierender Faktor für neutrophile Leukozyten (*Matsushima et al 1989, Oppenheim 1991 et al*) und besitzt ein großes Spektrum proinflammatorischer Wirkungen. Viele verschiedene Zelltypen wie z.B. Monozyten/Makrophagen, T-Zellen, Neutrophile, Fibroblasten und endotheliale Zellen sind in der Lage, IL-8 als Reaktion auf eine Reihe verschiedener inflammatorischer Stimuli wie IL-1, TNF- α und virale/bakterielle Infektionen zu bilden (*Mukaida 2000, Baggiolini et al 1997, Miller et al 1992*). Es induziert die Expression der Zelladhäsionsmoleküle CD11/CD18 und verstärkt die Adhärenz von Neutrophilen an Endothelzellen und subendothelialen Matrixproteinen (*Oppenheim 1991 et al, Rot 1992*).

1.5.5. Interleukin-10

Interleukin-10 (IL-10) ist ein pleiotropes Zytokin, welches sowohl immunsuppressive als auch immunstimulatorische Effekte auf viele verschiedene Zellen ausüben kann. IL-10 wird von T_H-Zellen (*Mosmann 1991*), einigen aktivierten B-Zelllinien und aktivierten Monozyten gebildet (*Spits et al 1992*). Es hemmt die Aktivierung und die Effektorfunktionen von verschiedenen Subklassen von T-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen, wobei IL-10 in der Lage zu sein scheint, entzündliche Immunreaktionen zu limitieren. Zusätzlich reguliert IL-10 das Zellwachstum und die Differenzierung von B-Zellen, NK-Zellen, zytotoxischen und T_H-Zellen, dendritischen Zellen und Granulozyten (*Moore et al 2001*). IL-10 ist ein potenter Modulator der Monozyten/Makrophagenfunktion.

Es ist in der Lage, die Produktion einer Reihe proinflammatorischer Zytokine (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 etc.) zu inhibieren (*Fiorentino et al 1991*).

1.5.6. Tumor Nekrose Faktor alpha

Der Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF- α) wird unter anderem von aktivierten mononukleären Phagozyten, Neutrophilen, aktivierten T- und B-Zellen, NK-Zellen und endothelialen Zellen gebildet (*Ruddle 1992, Vassalli 1992*). Es erzeugt klinische Symptome wie Fieber (zusammen mit IL-1), Gewichtsverlust, aktiviert das Gerinnungssystem und supprimiert die Zellteilung von Stammzellen im Knochenmark. In hohen Konzentrationen zeigt TNF- α eine deutlich negativ-inotrope Wirkung auf das Herz (*Levine et al 1990, Kelly et al 1997*) und reduziert Blutdruck und Gewebepерfusion. Es induziert die Bildung von IL-6 und wirkt synergistisch mit IL-6 als Aktivator der Akute-Phase-Proteine (Fibrinogen, CRP, Leukozyten-Elastase usw.) und der Komplementkaskade (*Bone 1996, Kjell et al 1990*). TNF- α induziert auf Endothelzellen die Expression spezifischer Adhäsionsmoleküle (*Springer 1990, Ward et al 1994*).

1.5.7. Interferon Gamma

Interferon Gamma (IFN- γ) wird von aktivierten T_H-Zellen und NK-Zellen nach Stimulation durch Antigene und Zytokine wie IL-2 und IL-12 produziert und zeichnet sich durch seine antiviralen und antiproliferativen Eigenschaften aus. IFN- γ ist ein starker Aktivator von mononukleären Phagozyten und stellt einen entscheidenden Mechanismus der Makrophagenaktivierung durch T-Zellen dar, es erhöht die Expression von MHC-Molekülen der Klasse I und II auf vielen verschiedenen Zelltypen (*Farrar et al 1993*), fördert die Differenzierung von T- und B-Lymphozyten (*Adolf 1985, Paul et al 1994*), aktiviert neutrophile Granulozyten, zytotoxische T-Zellen und Endothelzellen (*Young et al 1995*).

1.6. Fragestellung

Das Immunsystem basiert auf komplexem Zusammenwirken inhibierender und stimulierender Einflüsse. Über das Vorhandensein von Zytokinen in perikardialer Ergussflüssigkeit unterschiedlicher Genese ist bisher wenig bekannt, nur vereinzelt liegen Berichte über deren Nachweis in Perikardergüssen vor (*Shikama et al 2000, Mistchenko et al 1995*).

Ziel dieser Arbeit war zu prüfen, ob durch Bestimmung von IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-2 sR α , IFN- γ und TNF- α in der Ergussflüssigkeit die diagnostischen Analysemöglichkeiten perikardialer Ergüsse erweitert werden und ob es insbesondere möglich ist, durch Vorhandensein eines bestimmten Zytokinprofils auf die zugrundeliegende ergussauslösende Ursache zu schließen.

Hier war von besonderer Bedeutung zu prüfen, inwieweit sich bei einzelnen Ergussformen Hinweise auf eine intraperikardiale lokale Zytokinproduktion ergeben, wie hoch diese im Vergleich zum autologen Serum und zu Serumkontrollen ist und ob eine Zuordnung zu klassischen immunologischen Reaktionstypen wie der Th0-, der Th1- und der Th2-Antwort möglich ist. Einen Überblick über die Zytokinproduktion in verschiedenen T-Helfer-Zell-Subpopulationen gibt *Abb. 1.6.1*.

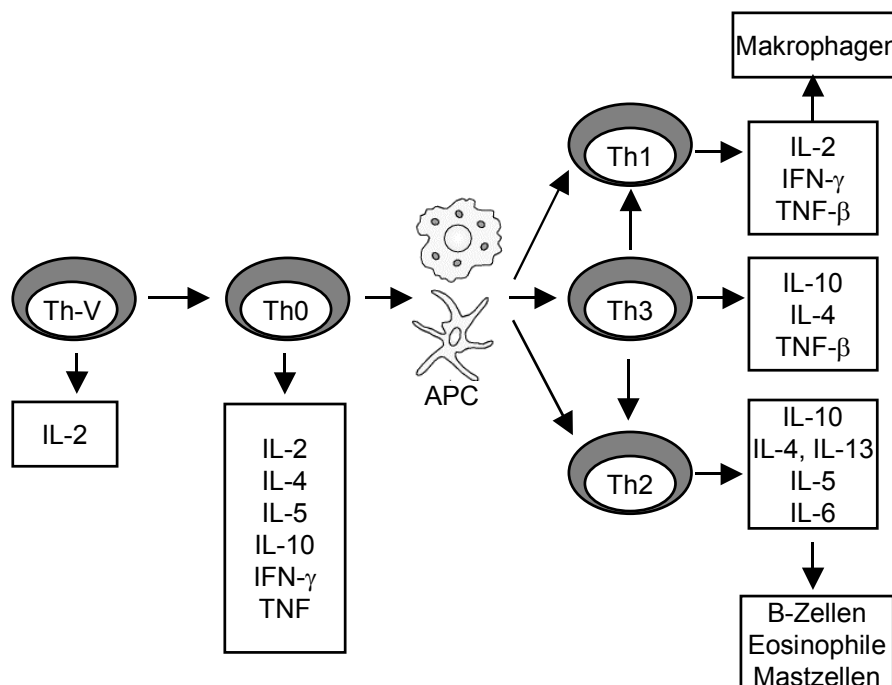


Abb. 1.6.1: Zytokinexpression in verschiedenen T-Helfer-Zellen: Th-V = Vorläuferzellen, APC=Antigen-präsentierende Zellen (modifiziert nach Classen, Diehl, Kochsiek 2003)

In Abb. 1.6.2 ist die systemische Wirkung von IL-1 und TNF als Schlüsselzytokine von Entzündungsreaktionen in verschiedenen Organsystemen dargestellt, u.a. ihre Effekte auf das Herz.

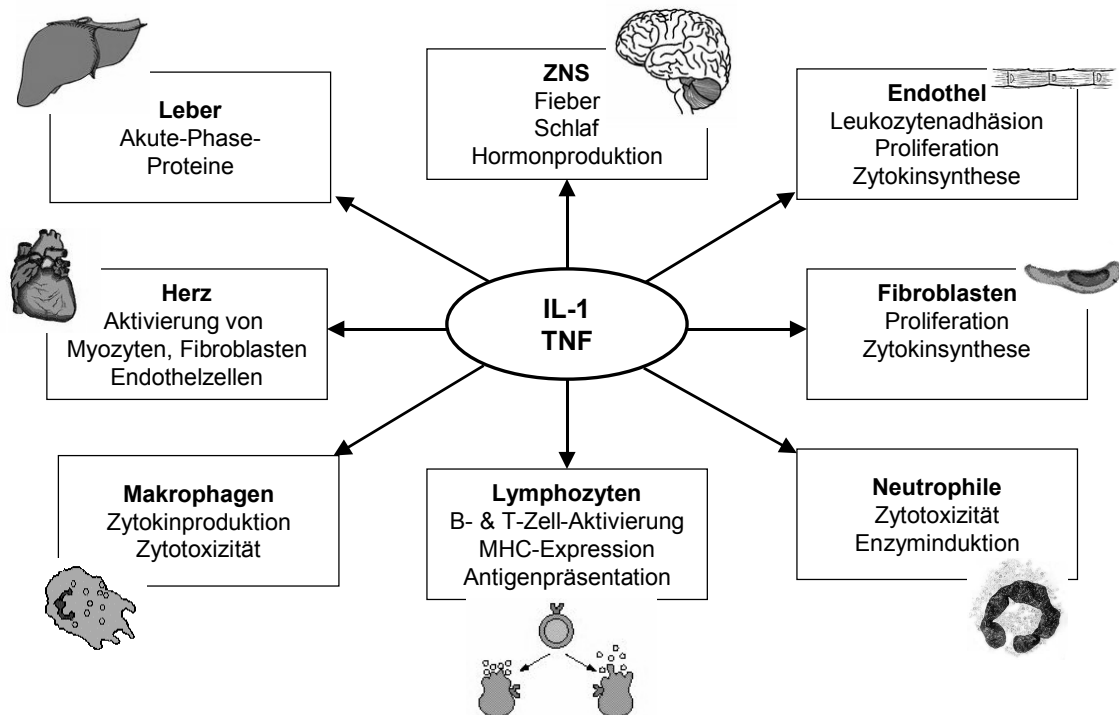


Abb. 1.6.2 Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor als Schlüsselzytokine der Entzündungsreaktion in verschiedenen Organsystemen (modifiziert nach Classen, Diehl, Kochsiek 2003)

2. Patienten und Methode

2.1. Methodische Aufarbeitung der Perikardergüsse

Die Indikationen für eine Punktion des Perikardergusses waren das Vorhandensein von Zeichen einer kardialen Tamponade sowie der echokardiographische Nachweis eines Ergusses vom Typ C in der Echokardiographie (Ergussmenge >250ml, anteriore diastolische Separation >20mm). Einzelheiten zum diagnostischen und therapeutischen Vorgehen bei perikardialen Ergüssen können in den Richtlinien der Taskforce für perikardiale Erkrankungen der WHF (World Heart Federation) und der ESC Taskforce for the Management of Pericardial Disease entnommen werden (*Maisch et al 2004*).

Im Rahmen der Punktion des Perikardergusses wurden bei 14 Patienten zusätzlich epikardiale Biopsien entnommen. Endomyokardbiopsien wurden in 22 Fällen durchgeführt.

Die Biopsate und Punktate wurden anschließend mittels molekularbiologischer (Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Nachweis viraler/bakterieller DNA/RNA), immunologischer und immunhistochemischer Methoden von Instituten der Universität untersucht. Folgende Untersuchungen wurden dabei durchgeführt:

2.1.1. Molekularbiologische Untersuchungen

Im kardiologisch-immunologischen Spezialroutinelabor der Universität wurden alle Perikardergüsse, Patientenseren und epikardiale/endomyokardiale Biopsien auf virale bzw. bakterielle DNA/RNA mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) untersucht, um eine eventuell vorliegende infektiöse Genese des Perikardergusses aufzuspüren. Es wurde nach folgenden, für den jeweiligen Erreger spezifischen Gensegmenten gesucht (*Bowles et al 1986, Chapman et al 1990, Goodman et al 1991, Hufnagel et al 1997, Mockenhaupt et al 1994, Piiparinen et al 1991, Schönian et al 1990*):

- 1) **Adenovirus**: nachgewiesen wurde die Region „Hexon“; Länge des PCR-Produktes: 308 bp
- 2) **Zytomegalievirus (CMV)**: nachgewiesen wurde die Region „US10/11“, Länge des PCR-Produktes: 360 bp
- 3) **Enterovirus**: nachgewiesen wurde die Region „5' NTR“, Länge des PCR-Produktes: 198 bp

4) **Herpes Simplex Virus (HSV)**: nachgewiesen wurde die Region „DNA Polymerase“, Länge des PCR-Produktes: 229 bp

5) **Borrelien**: Nachweis der Region „Hexon“, Länge des Amplifikates: 337 bp

Bei allen Untersuchungen wurden parallel positive und negative Kontrollen für den jeweiligen Erreger mit durchgeführt.

2.1.2. Immunfluoreszenztest

Alle Biopsate wurden mittels direkter und indirekter Immunfluoreszenz auf das Vorhandensein von antisarkolemmalen Antikörpern (ASA, durch Antigen-Antikörperbindung am Biopsat fixiert) und antimyolemmalen Antikörpern (AMLA, im Perikarderguss und im Serum) untersucht. Einzelheiten zu dieser Technik können den Arbeiten von *Maisch et al 1994 und 1995* entnommen werden.

2.1.3. Immunhistochemische Analysen

Die epikardialen und endomyokardialen Biopsate wurden, nachdem sie zu 5µm dünnen Schnitten weiterverarbeitet wurden, mit spezifischen Antikörpern auf Infiltration von aktivierten B- und T-Zellen (CD2, CD3, CD4, CD8, CD45), Makrophagen (CD11c, CD14) und Endothelzellen (EN4) untersucht. Ebenso wurde auf die Expression von MHC Molekülen der Klassen I und II (HLA-ABC, HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ) sowie von Zelladhäsionsmolekülen in Form von ICAM-1 auf der Zelloberfläche untersucht (*Hengstenberg et al 1991, Hufnagel et al 1991, Maisch et al 1995*).

2.1.4. Hämatologische, Histologische und Mikrobiologische Untersuchungen

Sämtliche Ergüsse und Biopsate wurden von der hämatologischen Abteilung der Universität auf das Vorhandensein maligner Zellen untersucht, ebenso wurden alle entnommenen Gewebeteile feingeweblich durch konventionelle HE-Färbung im pathologischen Institut der Universität beurteilt, eine kulturelle Analyse der Perikardergüsse erfolgte im mikrobiologischen Institut der Universität.

2.2. Verteilung und Zuordnung der Patienten

Die Untersuchung umfasste 48 Perikardergüsse und Seren von insgesamt 40 Patienten des Universitäts-Klinikums Marburg im Zeitraum vom 5.1.1996 bis zum 11.8.1998 sowie 44 Kontrollseren klinisch gesunder Individuen, zur Verfügung gestellt von der Marburger Blutbank.

21 Patienten waren weiblichen Geschlechts, 19 Patienten waren Männer. Das Durchschnittsalter betrug $55,4 \pm 21$ Jahre. Der jüngste Patient mit Perikarderguss war zum Punktionszeitpunkt 15 Jahre, der älteste 79 Jahre alt.

Wie bereits in der Einleitung geschildert, gibt es zahlreiche verschiedene perikardergussauslösende Erkrankungen. Um eine Aussage über einen eventuell vorhandenen Zusammenhang zwischen der zugrundeliegenden Ursache des Perikardergusses und einem spezifischen Zytokinprofil machen zu können, wurden die Patienten unter Berücksichtigung der klinischen Daten und Diagnosen und der Ergebnisse der zuvor beschriebenen molekularbiologischen, immunologischen und immunhistochemischen Untersuchungen in Gruppen eingeteilt, wobei die folgende Einteilung verwendet wurde (Maisch et al 1991, 1992, 1999 und 2002):

1. Gruppe: Patienten mit Perikarderguss verursacht durch eine **maligne Grunderkrankung**, also Patienten, bei denen entweder der maligne Prozess direkt in das Perikard infiltriert ist oder bei denen Metastasen im Perikard zum Auftreten des Ergusses geführt haben. Die Kriterien für die Zuordnung eines Patienten in diese Gruppe waren der klinische Nachweis der malignen Erkrankung durch entsprechende diagnostische Maßnahmen (z.B. Epikardbiopsie) und bildgebende Verfahren (CT, MRT, Echokardiogramm etc.) sowie ggf. der Nachweis maligner Zellen im Erguss (Zytologie).

Die Gruppe der Patienten mit maligner Grunderkrankung wurde in 2 *Untergruppen* subdifferenziert:

Gruppe 1a: Patienten mit zytologisch und/oder bioptisch validiertem Perikardtumor/metastase.

Gruppe 1b: Patienten mit maligner Grunderkrankung aber negativer Perikardergusszytologie und/oder fehlendem bioptischen Tumor/Metastasennachweis.

Ferner erfolgte für diese Subgruppen eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war (differentialdiagnostisch käme hier eine radiogene Ergussgenese in Betracht) sowie von

Patienten, bei denen eine intravenöse Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion durchgeführt wurde.

2. Gruppe: Patienten mit Perikarderguss, bei denen eine **virale (Gruppe 2a) oder bakterielle Infektion (Gruppe 2b)** zum Auftreten des Ergusses geführt hat. Die Kriterien für die Zuordnung eines Patienten in diese Gruppe war der kulturelle Erregernachweis oder der Nachweis viraler oder bakterieller DNA/RNA durch PCR oder das Vorhandensein eines stark erhöhten IgM-Titers für ein kardiotropes Virus (Adeno-, Entero-, Zytomegalie-, Influenza-, Hepatitis-B-, Parvo B19- und Herpes-Simplex-Virus) im Perikarderguss.

3. Gruppe: Patienten mit Perikarderguss, bei denen eine **autoreaktive bzw. entzündliche Genese** der Perikardergussentstehung vorlag (*Maisch et al 1991, 1992, 1999 und 2002*). Patienten wurden dieser Gruppe zugeordnet, wenn

- a) Lymphozyten den dominierenden Zelltyp (>50% der leukozytären Zellen) in der perikardialen Ergussflüssigkeit darstellten (**Gruppe 3a: autoreaktiver lymphozytärer Typ**) oder wenn sich
- b) eine vorwiegend Antikörper-vermittelte Ergussgenese nachweisen ließ (**Gruppe 3b: B-Zell-vermittelter, ASA- und AMLA (vom IgA und IgG Subtyp) positiver Perikarderguss**) und sich nur sehr wenige bis gar keine leukozytären Zellen in der perikardialen Ergussflüssigkeit nachweisen ließen.

Eine infektiöse oder maligne Genese oder eine Perikardergussbildung im Rahmen von Stoffwechselentgleisungen/-erkrankungen (z.B. Urämie, Kollagenosen etc.) war bei Patienten dieser Subgruppen nicht nachweisbar.

Drei Patienten waren keiner der oben genannten Gruppen zuzuordnen: Ein Patient hatte einen Perikarderguss traumatischer Genese nach einem Verkehrsunfall, ein weiterer entwickelte einen dialyseassoziierten Perikarderguss und ein Dritter im Rahmen einer Linksherzdekompensation.

Tabelle 2.2-1 gibt eine Übersicht über die zur Zuordnung der Patienten verwendeten Kriterien und deren Verteilung in den einzelnen Gruppen.

Ätiologie	Anzahl der Patienten	Kriterien für die Zuordnung
<i>Maligner Tumor/Metastasen</i>	19	Zytologie, Tumornachweis
zyto-/histologisch <i>positiv</i>	10	
zyto-/histologisch <i>negativ</i>	9	
<i>virale / bakterielle Infektion</i>	5	Erregernachweis durch PCR
-Adenovirus	1	oder Kultur
-CMV	1	
-Tuberkulose	1	
-Borrelia Burgdorferi	1	
-Staphylokokkus aureus	1	
<i>autoreaktiv / entzündlich</i>	13	lymphozytärer Perikarderguss, hohe ASA/AML A Titer, Ausschluß anderer Ursachen

Tab. 2.2-1

2.2.1. Kontrollseren

Es wurden 44 verschiedene Kontrollseren klinisch gesunder Personen untersucht, welche von der Marburger Blutbank zur Verfügung gestellt wurden. Da die Bereitstellung anonym erfolgte, war eine Einteilung hinsichtlich Geschlecht, Alter oder anderen Merkmalen nicht möglich.

2.3. Material

Zur Probenverarbeitung und Zytokinbestimmung wurden folgende Geräte und Materialien verwendet:

2.3.1. Geräte

- Pipetten (Eppendorf, 0,5-10 µl, 10-100µl, 100-1000µl, 1000-5000µl)
- Multipetten (Eppendorf)
- ELISA-Reader und Drucker: Messungen an zwei verschiedenen Readern
 - a) Labinstruments Austria. EAR 340 AT, Epson-Drucker EX-800
 - b) Dynatec Microplate Reader MR5000/7000, Epson-Drucker EX-800
- Automatischer Microtiterplatten-Washer: SLT-Labinstruments Austria
- Beckman Zentrifuge
- Rüttler für Verdünnungsschritte (Wilten)

2.3.2. Laborbedarf

- Combitips (Eppendorf)
- Pippettenspitzen (Eppendorf)
- Eppendorf Cups
- Kolben und Reagenzgefäße
- ELISA-Kits der Firma R&D Systems, MN, U.S.A
- Quantikine™ Human IL-1 α Immunoassay, Catalog Number DLA50
- Quantikine™ Human IL-2 Immunoassay, Catalog Number D2050
- Quantikine™ Human IL-6 Immunoassay, Catalog Number D6050
- Quantikine™ Human IL-8 Immunoassay, Catalog Number D8050
- Quantikine™ Human IL-10 Immunoassay, Catalog Number D1000
- Quantikine™ Human IL-2 sR α Immunoassay, Catalog Number DR2A00
- Quantikine™ Human IFN- γ Immunoassay, Catalog Number DIF00
- Quantikine™ Human TNF- α Immunoassay, Catalog Number DTA50

2.3.3. Probengewinnung und –verarbeitung

Die mittels Perikardpunktion gewonnene Ergussflüssigkeit, freundlicherweise von Prof. Maisch zur Verfügung gestellt, wurde in Eppendorf-Röhrchen ohne Zusätze gefüllt und anschließend innerhalb von 5 min bei $-80^{\circ}\text{Celsius}$ eingefroren und gelagert. Einige der Proben wurden ein zweites Mal auf Eis aufgetaut, um Aliquote herzustellen. Um eine Kontamination mit zellulären Bestandteilen, die zu einer Ergebnisverfälschung führen könnten, zu vermeiden, wurden alle Proben bei 4°Celsius und 1000g für 10 Minuten zentrifugiert und anschließend der Überstand abpipettiert.

Die Verarbeitung der Seren, sowohl die der Patienten als auch der Kontrollseren, gewonnen durch periphere venöse Blutabnahme (beim Patientenkollektiv am Tag der Ergusspunktion), 30 minütiger Gerinnung bei 4°C und anschließendem Abpipettieren des Serums, erfolgte analog.

Die Patientenseren wurden ebenfalls von Prof. Maisch zur Verfügung gestellt, während die Seren der Kontrollgruppe von der Universitätsblutbank Marburg stammten.

2.3.4. Bestimmung der Zytokine

Die Bestimmung der Zytokine erfolgte mittels kommerziell erhältlicher QuantikineTM-Enzym-Immunoassays (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) für IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-2 sR α , IFN- γ und TNF- α der Firma R&D Systems, MN, U.S.A. Der Messbereich der verschiedenen Assays für die einzelnen Zytokine lag für IL-1 α bei 0,5-250 pg/ml, für IL-2 bei 7-2000 pg/ml, für IL-6 bei 0,7-300 pg/ml, für IL-8 bei 10-2000 pg/ml, für IL-10 bei 1,5-500 pg/ml, für IL-2 sR α bei 6-5000 pg/ml, bei IFN- γ zwischen 3,0-1000 pg/ml und bei TNF- α zwischen 4,4-1000 pg/ml.

Sämtliche Assays waren für das jeweilige Zytokin spezifisch, eine Kreuzreaktion mit anderen Zytokinen konnte laut Herstellerangaben nicht gezeigt werden. Alle QuantikineTM-Immunoassays haben einen Variationskoeffizienten bei Intra- und Interassay-Genauigkeitsbestimmungen von unter 10% (ebenfalls Herstellerangaben).

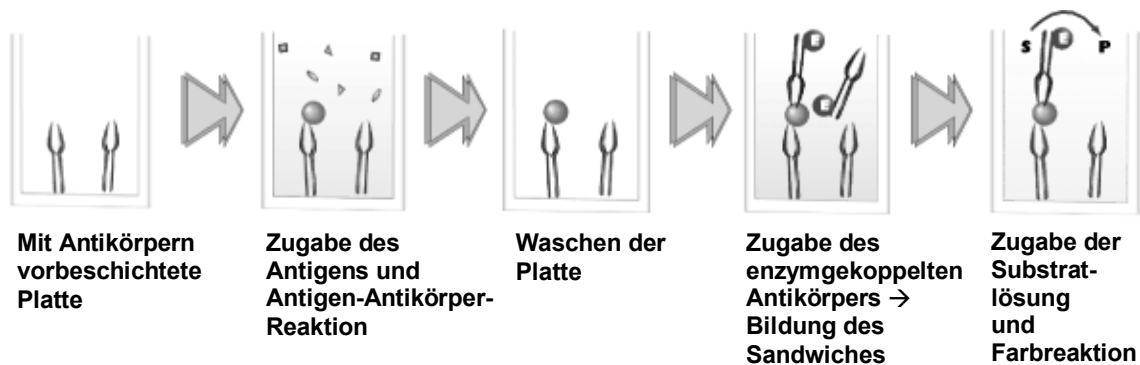
Alle Messungen wurden in Doppelbestimmungen durchgeführt.

Alle ELISAs wurden gemäß den Angaben des Herstellers durchgeführt, sämtliche zur Durchführung des ELISAs benötigten Reagenzien lagen den Kits bei, wobei deren exakte chemische Zusammensetzung nur dem Hersteller bekannt ist.

Die ELISAs wurden mit den ELISA-Readern der Firma SLT-Labinstruments Austria (EAR 340 AT) und der Firma Dynatec (Microplate Reader MR5000/7000) gemessen.

2.3.5. Prinzip der Zytokinbestimmung

Das Grundprinzip des ELISAs beruht auf einer Antigen-Antikörper Reaktion, bei der ein monoklonaler, unmarkierter Antikörper in trägergebundener Form auf einer Mikrotiterplatte vorliegt. Nach Zugabe des jeweiligen Zytokins (=Antigen) erfolgt eine spezifische Antigen-Antikörper Reaktion, wobei die Menge des gebundenen Antigens proportional zu der Konzentration des in Lösung befindlichen Antigens ist. Nach dem Auswaschen der nicht gebundenen, freien Antigene erfolgt die Zugabe eines ebenfalls für das Antigen spezifischen, jedoch enzymgekoppelten, polyklonalen Antikörpers (konjugiert an horseradish peroxidase, HRP), der nun seinerseits mit dem bereits gebundenen Antigen reagiert (=Sandwich-ELISA). Nach Auswaschen des überschüssigen, nicht gebundenen enzymmarkierten Antikörpers wird eine Substratlösung (Tetramethylbenzidin, TMB) zugegeben, die von dem Enzym zu einem farbigen Produkt umgesetzt wird. Nach einer definierten Reaktionszeit wird die Farbreaktion mit 1 molarer Schwefelsäure (Stopplösung) gestoppt.



Durch Mitführen einer Standardreihe mit definierter Antigenkonzentration und Messung der Extinktion lässt sich daraufhin durch Anwendung des Lambert-Beer-Gesetzes die Konzentration in der eingesetzten Probe ermitteln.

2.3.5.1. Bestimmung von IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-10, IFN- γ und TNF- α

Das Prinzip der Durchführung des Immunoassays war für IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-10, IFN- γ und TNF- α vergleichbar, Unterschiede bestanden nur in den Konzentrationen der Standardreihe (siehe *Tabelle 2.3.5.1-1*), den verwendeten Lösungen und den Inkubationszeiten. Exemplarisch sei an dieser Stelle nur der Arbeitsgang für den *IL-1 α Assay* dargestellt:

Die Vorbereitung: Aufwärmen aller Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur, Rekonstituierung des IL-1 α Standards mit 5 ml RD6C, wodurch eine Standardlösung mit einer Konzentration von 250 pg/ml IL-1 α entsteht. Anschließend Ansetzen einer Verdünnungsreihe mit RD6C, wodurch man 6 Aliquote mit einer Konzentration von 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8 und 3.9 pg/ml IL-1 α erhält. Als Negativkontrolle diente unverdünnte RD6C Lösung, sodass man insgesamt 8 verschiedene Proben mit bekannter Konzentration erhält, die anschließend als Standardreihe dienen.

Durchführung:

50 μ l RD1C in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren



Hinzufügen von 200 μ l Standard oder Probe in jedes Well



2 h bei RT inkubieren

3x mit je 400 μ l Waschpufferlösung waschen



Hinzufügen von 200 μ l Anti IL-1 α HRP-Konjugat



2 h bei RT inkubieren

3x mit je 400 μ l Waschpufferlösung waschen



Hinzufügen von 200 μ l Substratlösung (TMB)



20 min bei RT inkubieren

Hinzufügen von 50 μ l Stopplösung



Messung der Extinktion bei 450 nm innerhalb von 30 min

	Konzentration der Standardreihe (pg/ml)
IL-1 α	250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, 3.9
IL-2	2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2
IL-6	300, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12
IL-10	500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8
IFN- γ	1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6
TNF- α	1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6

Tab. 2.3.5.1-1: Konzentrationen der Standardreihen

2.3.5.2. Bestimmung von IL-8 und IL-2 sR α

Die Durchführung der Immunoassays für IL-8 und IL-2 sR α unterschied sich in der Durchführung nur insofern von den anderen Assays, als das bei diesen ELISAs die Standards (Konzentrationen siehe *Tabelle 2.3.5.2-1*) bzw. Proben und der enzymgekoppelte Antikörper direkt zusammen in die Wells pipettiert wurden, bei diesen Assays war also ein Waschgang weniger erforderlich.

	Konzentration der Standardreihe (pg/ml)
IL-8	2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2
IL-2 sR α	5000, 2500, 1250, 625, 312, 156, 78.1

Tab. 2.3.5.2-1: Konzentrationen der Standardreihen für IL-8 und IL-2 sR α

2.3.6. Untersuchungen zur Zytokinstabilität

Die Lagerung der Perikardergüsse und Seren erfolgte bis zur Zytokinbestimmung bei -80 °Celsius. Zur Bestimmung der Zytokine mittels ELISA wurden die Ergüsse auf Eis aufgetaut. Aus organisatorischen Gründen erfolgte die Zytokinbestimmung nach unterschiedlicher Lagerungszeit. Eine Beeinflussung der Zytokinkonzentration durch die Lagerung wäre somit denkbar. Eine Prüfung der Lagerungsstabilität erfolgte exemplarisch für IL-6, IL-8, IL-10 und IL-2 sR α in einem zufällig ausgewählten Perikarderguss und Serum eines Patienten mit malignem Perikarderguss. Die Konzentrationen von IL-

1 α , IL-2, IFN- γ und TNF- α bewegten sich in diesen Proben am Rande der unteren Nachweisgrenze.

Das Vorgehen bei diesem Versuch war Folgendes: Die frisch punktierte Ergussflüssigkeit wurde entweder sofort (0 h), nach 4 Stunden (4 h), nach 12 Stunden (12 h) oder nach 24 Stunden (24 h) nach Lagerung auf Eis bei -80 °C tiefgefroren, womit geprüft werden sollte, ob zeitliche Verzögerungen bis zum definitiven Einfrieren bei -80 °C eine Veränderung der Zytokinkonzentration bewirken. Des Weiteren wurden die Proben für eine unterschiedlich lange Dauer (1 Tag, 1 Woche und 1 Monat) bei -80 °C aufbewahrt, um zu prüfen, ob eine Lagerung der Proben bei -80 °C eine Auswirkung auf die Zytokinkonzentration hat.

2.4. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte im Wesentlichen deskriptiv. Zur grafischen Darstellung der Messergebnisse wurden Punkt-xy Diagramme verwandt, in denen die Einzelwerte der jeweiligen Zytokinmessungen dargestellt wurden, ferner erfolgte die Verwendung von Box-and-Whisker Plots, bei denen die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

Der für die einzelnen Zytokine angegebene Referenzwert wurde durch die Berechnung des 97,5 %-Quantils der Zytokinbestimmungen in den Kontrollseren festgelegt.

Zum Vergleich der Messwerte *innerhalb* einer (Sub-)Gruppe wurde der Wilcoxon-Test angewandt. Vergleiche *zwischen* den verschiedenen Gruppen wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes durchgeführt.

Eine Fehlerwahrscheinlichkeit von weniger als 5 Prozent ($p < 0,05$) wurde als signifikant gewertet.

Aufgrund der stark unterschiedlichen Subgruppengrößen und der kleinen Fallzahlen wurde auf Anwendung eines statistischen Tests bei Vergleichen zwischen den Subgruppen verzichtet.

Als Statistiksoftware wurde SPSS für Microsoft Windows™, Version 7.5.2G, SPSS Inc, benutzt.

3. Ergebnisse

3.1. Untersuchungen zur Zytokinstabilität

Wie bereits in *Abschnitt 2.3.6* beschrieben, wurde die Lagerungsstabilität für IL-6, IL-8, IL-10 und IL-2 sR α in einem zufällig ausgewählten Perikarderguss und Serum eines Patienten mit malignem Perikarderguss bestimmt. Die Ergebnisse der Stabilitätsprüfung können den *Abbildungen 3.1-1* bis *3.1-4* entnommen werden.

Wesentliche Konzentrationsverluste, hervorgerufen durch eine Lagerung auf Eis oder durch das Einfrieren/Lagern bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ konnten nicht beobachtet werden.

Die Bestimmung der Konzentrationen im Serum des gleichen Patienten (Daten nicht graphisch dargestellt) erfolgten nach 4 wöchiger Lagerung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, auch hier wurden keine wesentlichen Abnahmen der Konzentrationen beobachtet.

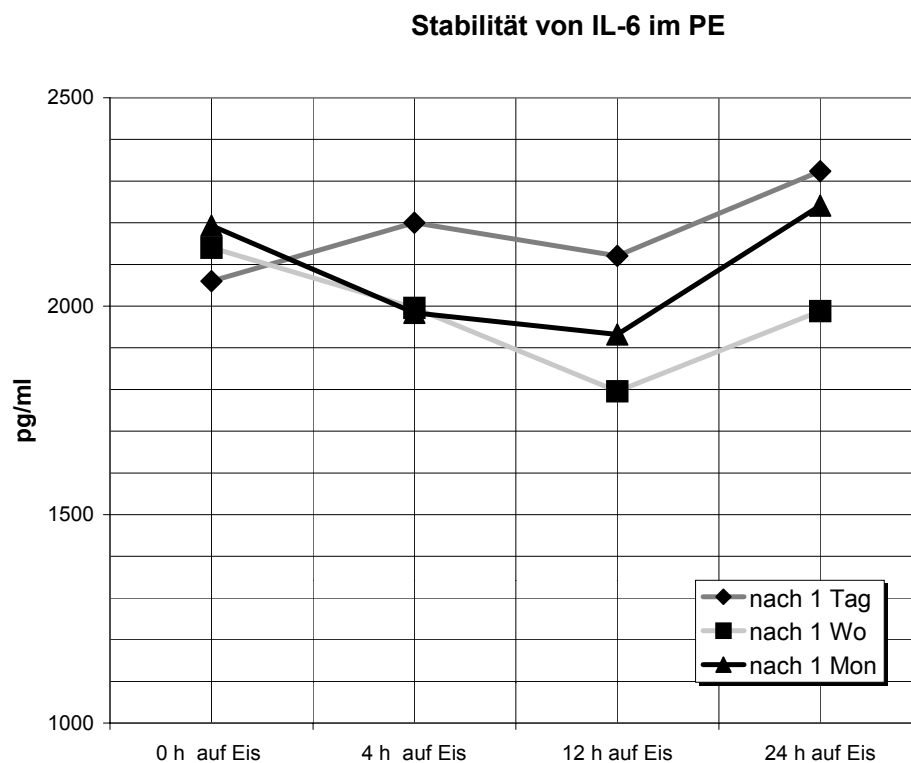


Abb. 3.1-1: Stabilität von IL-6 im Perikarderguss

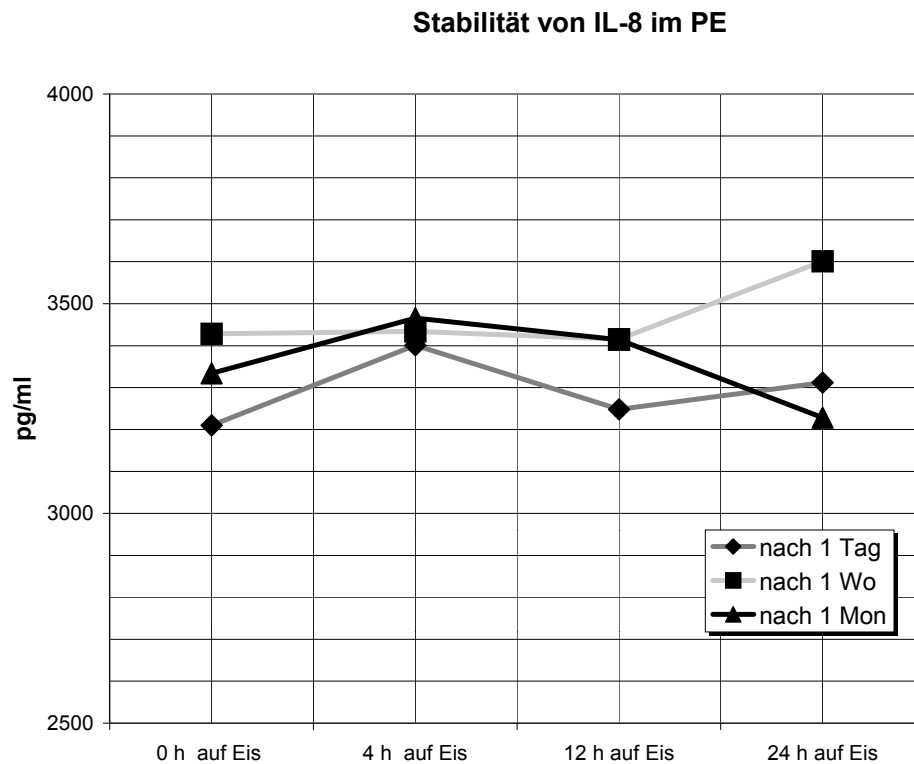


Abb. 3.1-2: Stabilität von IL-8 im Perikarderguss

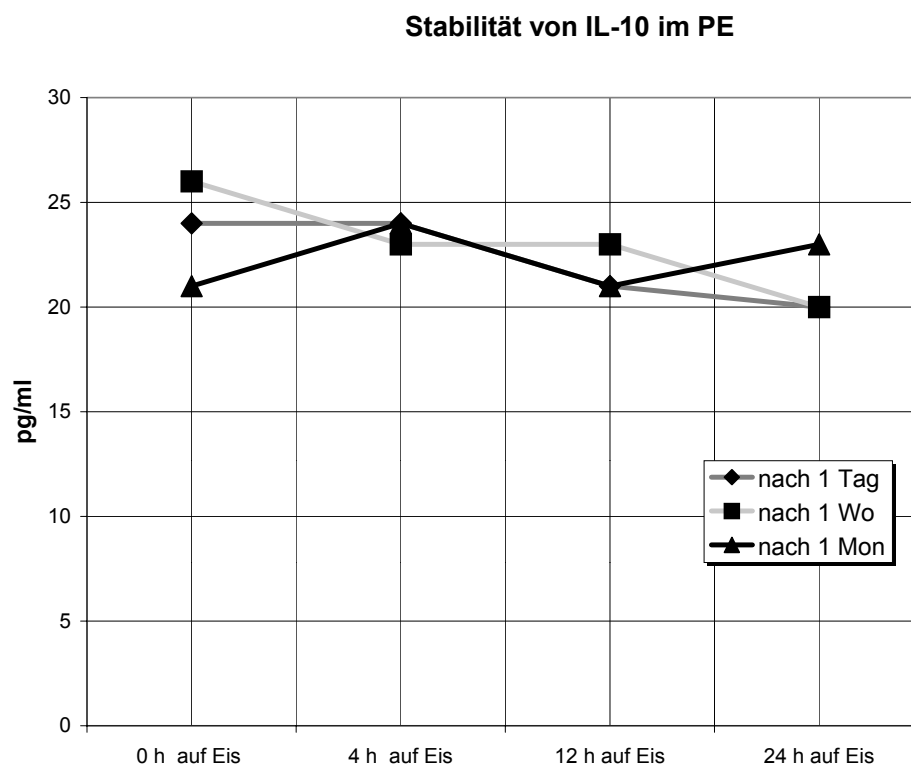


Abb. 3.1-3: Stabilität von IL-10 im Perikarderguss

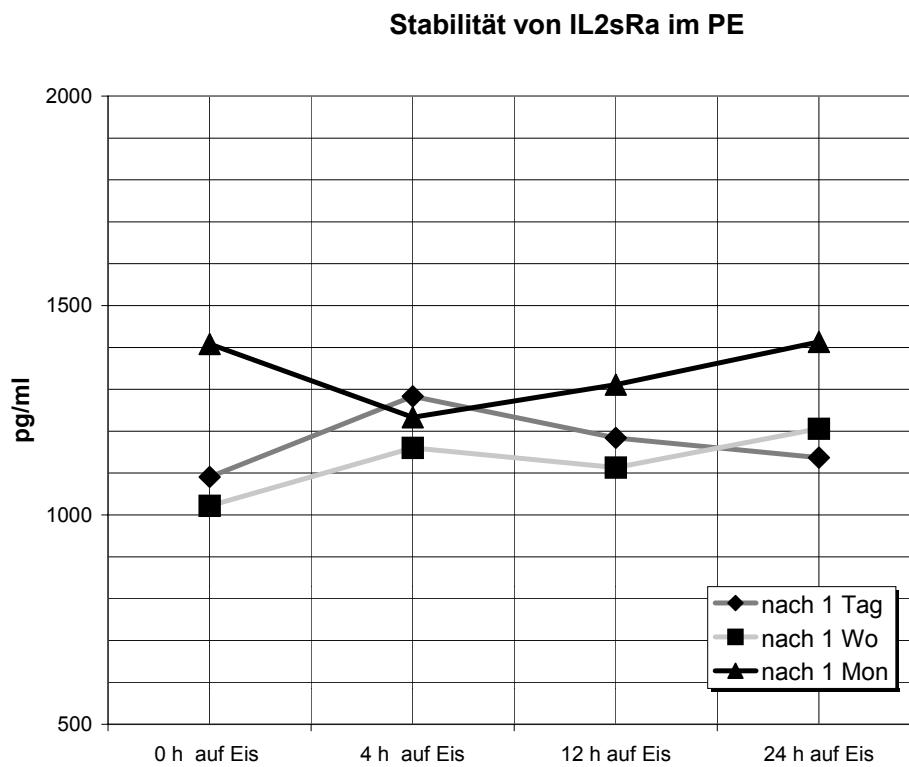


Abb.3.1-4: Stabilität von IL-2 sRα im Perikarderguss

3.2. Gruppe 1: Patienten mit maligner Grunderkrankung

Diese Gruppe umfasste 19 Patienten, wobei bei drei Patienten der Perikarderguss ein zweites mal punktiert wurde, sodass bei insgesamt 22 Perikardergüssen maligner Genese eine Zytokinanalyse durchgeführt wurde.

Die durchschnittliche punktierte Ergussmenge betrug in dieser Gruppe ca. $622 \text{ ml} \pm 338 \text{ ml}$. Eine eventuell vorliegende infektiöse Genese des Perikardergusses konnte bei keinem der Patienten gezeigt werden, kulturelle und molekularbiologische Erregernachweismethoden waren in allen Fällen negativ.

Die Gruppe der Patienten mit maligner Grunderkrankung wurde subdifferenziert in **Gruppe 1a**, welche die Patienten mit zytologisch bzw. bioptisch gesicherter Perikardinfiltration umfasst sowie in **Gruppe 1b**, die Patienten mit maligner Grunderkrankung aber fehlendem zytologischen/bioptischen Tumornachweis einschließt.

Es erfolgte ferner für diese Subgruppen eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie von Patienten, bei denen eine intravenöse Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion durchgeführt wurde.

Gruppe 1a umfasste insgesamt 10 Patienten, das Durchschnittsalter betrug $59 \pm 8,1$ Jahre. Bei allen Patienten dieser Gruppe, wie auch in *Gruppe 1b*, wurden sekundäre Neoplasien des Perikards beobachtet. Bei 9 von 10 Patienten gelang der Nachweis maligner Zellen im Perikarderguss, bei einem Patienten gelang der definitive Tumorzellnachweis durch eine Epikardbiopsie (bei negativer Ergusszytologie). Ursächlich für die Perikardergussentstehung war bei 5 Patienten ein Bronchialkarzinom (3 Plattenepithelkarzinome, 2 Adenokarzinome), bei 3 Patientinnen Metastasen eines Mammakarzinoms, bei 2 Patienten lag ein malignes Lymphom vor (1 Patient mit M.Hodgkin, 1 Patient mit Non-Hodgkin Lymphom), siehe *Abbildung 3.2-1*. Bei insgesamt 3 Patienten wurde eine Epikardbiopsie vorgenommen, wobei bei der anschließenden histopathologischen Beurteilung in 2 Fällen der Verdacht auf eine maligne Perikardinfiltration geäußert wurde (darunter ein Patient mit negativer Ergusszytologie, einer mit positiver Ergusszytologie), in einem weiteren Fall fanden sich unspezifische entzündliche perikardiale Infiltrationen im Sinne einer Perikarditis. Bei 5 Patienten wurde eine Endomyokardbiopsie durchgeführt, wobei bei keinem der Patienten eine entzündliche Myo-

kardinfiltration i.S. einer akuten bzw. Borderline-Myokarditis gezeigt werden konnte. Zu den diagnostischen Kriterien einer Myokarditis siehe *Maisch et al 2000*.

Bei einem Patienten dieser Gruppe wurde in der Vorgeschichte das Mediastinum bestrahlt (Patient mit M.Hodgkin), sodass ein radiogener Erguss differentialdiagnostisch in Frage kommt. Bei keinem der Patienten wurde in den Monaten vor bzw. zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine intravenöse Chemotherapie durchgeführt.

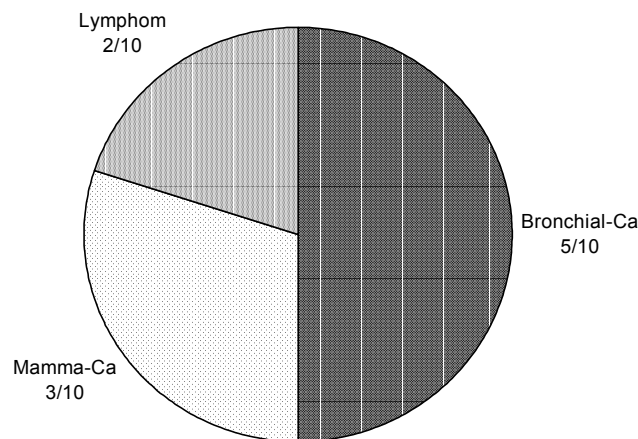


Abb.3.2-1 Gruppe 1a, Patienten mit positivem Tumorzellnachweis

Gruppe 1b umfasste insgesamt 9 Patienten mit maligner Grunderkrankung. Bei allen Patienten dieser Gruppe war die zugrundeliegende Tumorerkrankung weit fortgeschritten und bereits die Metastasierung in anderen Organen wie Lunge, Leber oder Knochen nachgewiesen worden. Das Durchschnittsalter betrug $50,9 \pm 15,3$ Jahre. 3 Patienten waren an einem Bronchialkarzinom (2 mit Plattenepithelkarzinom, 1 mit Adenokarzinom), 2 Patientinnen an einem Mammakarzinom, 2 Patienten an einem Hodgkin-Lymphom erkrankt, bei einem Patienten lag ein infiltrativ wachsendes Ösophagus-Karzinom vor und bei einer Patientin lag ein metastasiertes Ovarial-Karzinom zugrunde. In 2 Fällen wurde eine Epikardbiopsie entnommen, wobei sich in der histopathologischen Untersuchung unspezifische entzündliche Infiltrate zeigten. In zwei weiteren Fällen wurden Endomyokardbiopsien entnommen ohne histologischen Nachweis einer Myokarditis.

Von den 9 Patienten dieser Gruppe sind 6 Patienten (67%) in der Vorgeschichte einer Mediastinalbestrahlung unterzogen worden, eine radiogene Perikardergussgenese ist somit differentialdiagnostisch zu diskutieren. Bei zwei Patienten dieser Subgruppe (also fehlendem zytologischen/bioptischen Tumornachweis und Bestrahlung des Mediasti-

nums in der Vorgeschichte) wurde zum Zeitpunkt der Punktion des Perikardergusses eine intravenöse Chemotherapie durchgeführt (bei einem Patienten mit Bronchialkarzinom wurde eine Chemotherapie mit Mitomycin C, Ifosfamid und Cisplatin durchgeführt, bei einer Patientin mit M.Hodgkin wurde das CEVD-Schema durchgeführt (CCNU (Lomustin), Etoposid, Vindesin und Dexamethason).

Tabelle 3.3-1 gibt eine Übersicht über die Daten der Patienten mit maligner Grunderkrankung.

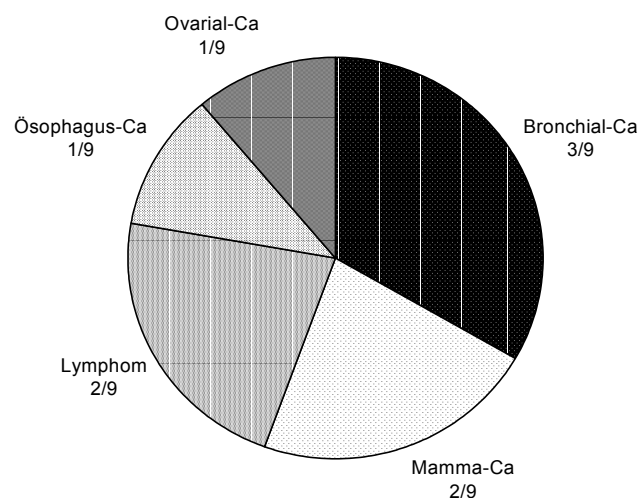


Abb.3.2-2 Gruppe 1b, Patienten mit fehlendem Tumorzellnachweis

3.3. Gruppe 2: Patienten mit infektiöser Ergussätiologie

Bei insgesamt 5 Patienten gelang es, einen spezifischen Erreger nachzuweisen. Ein Patient wurde zwei weitere Male perikardpunktiert, sodass aus dieser Gruppe insgesamt 7 Perikardergüsse zur Zytokinanalyse zur Verfügung standen. Das Durchschnittsalter der Patienten in dieser Gruppe betrug $55,6 \pm 8,8$ Jahre, 2 der Patienten waren männlichen Geschlechts. Im Durchschnitt wurden in dieser Gruppe ca. 375 ± 250 ml Perikarderguss punktiert. Maligne oder andere für den Erguss ursächliche Erkrankungen wurden bei diesen Patienten ausgeschlossen.

Diese Gruppe wurde subdifferenziert in **Gruppe 2a**, die Patienten mit positivem Virusnachweis umfasst sowie in **Gruppe 2b**, die Patienten mit bakterieller Perikarditis einschließt.

Gruppe 2a: Bei zwei Patienten konnte eine virale Ätiologie gezeigt werden, es wurde Adenovirus- bzw. Zytomegalievirus-DNA in der PCR nachgewiesen. Da einer der Patienten 2 weitere Male perikardpunktiert wurde, standen insgesamt 4 Ergüsse viraler Ätiologie zur Verfügung. Bei beiden Patienten dieser Subgruppe wurde eine Endomyokardbiopsie durchgeführt sowie zusätzlich im Rahmen der Ergusspunktion eine Epikardbiopsie entnommen. In den Endomyokardbiopsien konnten keine Zellinfiltrationen i.S. einer Myokarditis nachgewiesen werden, die Epikardbiopsien zeigten in beiden Fällen eine fibrinöse, granulierende Perikarditis. Einer der vier Ergüsse war hämorrhagisch, immunzytologisch fand sich ein entzündliches Zellbild in Form von überwiegend lymphozytären Zellen in zwei der vier Ergüsse.

Gruppe 2b: In drei weiteren Fällen war eine bakterielle Infektion ursächlich für den Erguss (in je einem Fall positiver Nachweis von Tuberkulose bzw. Staph. Aureus in der Kultur, in einem weiteren Fall Nachweis von B. Burgdorferi mittels PCR). Einer der drei Ergüsse war hämorrhagisch, zytologisch waren Granulozyten in allen Ergüssen der dominierende Zelltyp. Bei zwei der drei Patienten wurde eine Endomyokardbiopsie durchgeführt, eine Zellinfiltrationen i.S. einer Myokarditis konnte nicht nachgewiesen werden. Epikardbiopsien wurden nicht entnommen.

Tabelle 3.3-1 gibt eine Übersicht über die Daten der Patienten mit infektiöser Ergussätiologie

3.4. Gruppe 3: Patienten mit autoreaktivem/entzündlichem Perikarderguss

Bei insgesamt 13 Patienten konnte weder ein bestimmter Erreger noch eine Tumorerkrankung nachgewiesen werden. Andere Ursachen, z.B. metabolische oder systemische Grunderkrankungen wie z.B. Kollagenosen wurden ausgeschlossen.

Das Durchschnittsalter der Patienten in dieser Gruppe betrug $56,1 \pm 16,9$ Jahre, insgesamt 7 Patienten waren männlichen Geschlechts. Zwei Patienten wurden mehr als einmal perikardpunktiert, sodass aus dieser Gruppe insgesamt 16 Perikardergüsse in die Untersuchung eingingen. Im Durchschnitt wurden bei den Patienten dieser Gruppe ca. 450 ± 218 ml Perikarderguss punktiert.

Die Gruppe der Patienten mit autoreaktiv/entzündlichem Perikarderguss wurde subdifferenziert in **Gruppe 3a**, welche die Patienten mit Perikardergüssen vom autoreaktiv lymphozytären Typ umfasst und **Gruppe 3b** mit Antikörper-vermittelter Ergussgenese (B-Zell-vermittelter, ASA- und AMLA (vom IgA und IgG Subtyp) positiver Perikarderguss).

Gruppe 3a umfasste insgesamt 12 Patienten, ein Patient wurde ein weiteres Mal perikardpunktiert, sodass aus dieser Gruppe insgesamt 13 Perikardergüsse zur Zytokinanalyse zur Verfügung standen. 4 der Ergüsse waren hämorrhagisch, die restlichen waren makroskopisch unauffällig. In allen 13 Perikardergüssen stellten Lymphozyten den dominierenden Zelltyp (>50% der leukozytären Zellen) dar.

In 10 Fällen wurde eine Endomyokardbiopsie durchgeführt, wobei sich in 4 Fällen in der Immunhistologie eine Myokarditis zeigen ließ. Im Rahmen der Perikardergusspunktion wurde bei 6 Patienten (darunter 3 Patienten mit zusätzlicher Endomyokardbiopsie) eine Epikardbiopsie entnommen, wobei in 5 Fällen die histopathologische Diagnose einer fibrinösen, granulierenden Perikarditis gestellt wurde (2 davon mit bewiesener Myokarditis).

Gruppe 3b: Dieser Gruppe ließ sich ein Patient zuordnen, dieser wurde zwei weitere Male punktiert, sodass letztlich 3 Perikardergüsse autoreaktiv-humoraler Genese zur Verfügung standen. Die Perikardergüsse waren makroskopisch unauffällig. Sowohl in den Perikardergüssen als auch im autologen Patientenserum zeigten sich deutlich positive Titer für antimyolemmale Antikörper (AMLA) und antisarkolemmale Antikörper (ASA).

In der bei diesem Patienten durchgeführten Endomyokardbiopsie fanden sich keine Infiltrationen i.S. einer Myokarditis, eine Viruspersistenz konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

Im Rahmen der Perikardergusspunktion wurde bei diesem Patienten eine Epikardbiopsie entnommen, hier zeigte sich eine unspezifische fibrinöse epi- und perikardiale Entzündungsreaktion.

Tabelle 3.3-1 gibt eine Übersicht über die Daten der Patienten mit autoreaktiv-ver/entzündlicher Ergussätiologie.

3.5. Weitere Patienten

Drei Patienten ließen sich keiner der o.g. Gruppen zuordnen, die Ergebnisse der Zytokinbestimmungen in Perikardergüssen und Seren werden daher im Folgenden gesondert dargestellt.

Bei einem 80 jährigen Patienten lag eine dialyseassoziierte Perikarditis vor, der Patient wurde bereits seit mehreren Monaten hämodialysiert. Hinweise auf eine infektiöse oder maligne Perikardergussgenese fanden sich nicht, Perikard- oder Endomyokardbiopsien wurden bei diesem Patienten nicht entnommen.

Ein 24 jähriger Patient entwickelte unmittelbar (<24h) nach einem Verkehrsunfall einen traumatischen hämorrhagischen Perikarderguss. Aufgrund der eindeutigen Ergussgenese wurde hier im Rahmen der bei diesem Patienten durchgeführten Linksherzkatheteruntersuchung auf die Entnahme von Peri- oder Endomyokardbiopsien verzichtet.

Ferner entstand bei einem 74 jährigen Patienten der Perikarderguss im Rahmen einer dekompensierten Linksherzinsuffizienz (Hydroperikard) bei hochgradig eingeschränkter linksventrikulärer Pumpfunktion (Ejektionsfraktion bei 20%) auf dem Boden einer koronaren Herzerkrankung. Hinweise auf eine infektiöse oder maligne Perikardergussgenese fanden sich nicht, Perikard- oder Endomyokardbiopsien lagen von diesem Patienten nicht vor.

	maligne			infektiös			autoreaktiv/ entzündlich		
	gesamt	positive Zytologie	negative Zytologie	gesamt	viral	bakteriell	gesamt	lymphozytär	humoral
Anzahl untersuchter Patienten	19	10	9	5	2	3	13	12	1
Anzahl untersuchter Perikardergüsse	22	11	11	7	4	3	16	13	3
Maligne Zellen im Perikarderguss (% pos.)	41	90	0	0	0	0	0	0	0
Anzahl von Epi-/Perikardbiopsien	5	3	2	2	2	0	7	6	1
-Nachweis maligner Infiltration (% pos.)	40	67	0	0	0	0	0	0	0
-Nachweis einer entzündlichen Infiltration (% pos.)	60	33	100	100	100	0	71	66	100
Erregernachweis (Anzahl untersuchte Ergüsse)	0	0	0	7	4	3	0	0	0
- positive PCR auf kardiotope Viren	0	0	0	4	4	0	0	0	0
(Adeno-, Entero-, CMV, HSV)									
- positive PCR auf B.Burgdorferi	0	0	0	1	0	1	0	0	0
- Kultureller Nachweis	0	0	0	2	0	2	0	0	0
Anzahl der Endomyokardbiopsien	8	5	3	4	2	2	11	10	1
-histol. Myokarditisnachweis (in %)	0	0	0	0	0	0	36	40	0
Seröser Perikarderguss (%pos., Eiweiß <30 g/l)	9	9	9	14	25	0	64	63	66
Hämorrhagischer Perikarderguss (% pos.)	50	58	42	28	25	33	25	31	0
Monozytäre Zellen (Anteil in % der Leukozyten)	61	65	56	31	46	10	26	28	15
Granulozytäre Zellen (Anteil in % der Leukozyten)	39	35	42	49	22	86	16	17	10
Lymphozytenreicher PE (% pos.) (>50% der Leukozyten)	18	18	18	43	50	33	81	100	0
Patienten mit Zustand nach Mediastinalbestrahlung	8	1	7	0	0	0	0	0	0
i.v. Chemotherapie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung/Punktion des Perikardergusses	2	0	2	0	0	0	0	0	0
AMLAs (IgG, IgA) im Perikarderguss (%pos.)	41	36	45	57	75	33	81	77	100
AMLAs (IgG, IgA) im Serum (%pos.)	41	45	36	57	75	33	75	69	100
ASAs (IgG, IgA) im Perikarderguss (%pos.)	59	64	54	42	50	33	87	84	100
ASAs (IgG, IgA) im Serum (%pos.)	41	36	45	42	50	33	81	77	100

Tab. 3.3-1

3.6. Ergebnisse der Zytokinbestimmungen in Perikardergüssen und Seren

Zur Zytokinanalyse standen insgesamt 48 Perikardergüsse und Seren von 40 verschiedenen Patienten zur Verfügung. Es wurden 22 Ergüsse maligner Ätiologie (*Gruppe 1*), 7 Ergüsse infektiöser Ätiologie (*Gruppe 2*) und 16 Ergüsse autoreaktiver/entzündlicher Genese (*Gruppe 3*) untersucht. Drei Ergüsse konnten ätiologisch keiner der zuvor genannten Gruppen zugeordnet werden, die Ergebnisse der Zytokinanalyse dieser Ergüsse werden daher im Folgenden gesondert dargestellt.

Wie zuvor geschildert wurden die Perikardergüsse bezüglich Ihrer Ätiologie in weitere Subgruppen unterteilt: Bei Patienten mit maligner Grunderkrankung wurden die Ergebnisse der Zytokinanalysen in eine Gruppe mit zytologisch bzw. bioptisch gesicherter Perikardinfiltration sowie in eine Gruppe mit maligner Grunderkrankung aber fehlendem zytologischen/bioptischen Tumornachweis eingeteilt. Ferner erfolgte für diese Subgruppen eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war (differentialdiagnostisch käme hier eine radiogene Ergussgenese in Betracht) sowie von Patienten, bei denen eine intravenöse Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion durchgeführt wurde.

Die Patienten der Gruppe mit infektiöser Ergussätiologie wurde in eine Subgruppe mit viraler Ergussätiologie sowie in eine mit bakterieller Ergussätiologie unterteilt.

Die Patienten mit Perikarderguss, bei denen eine autoreaktive bzw. entzündliche Genese der Perikardergussentstehung vorlag, wurden unterteilt in Patienten mit lympho-/monozytärem Perikarderguss (*autoreaktiver lymphozytärer Typ*) sowie in Antikörpervermittelte Perikardergüsse (*B-Zell-vermittelter, ASA- und AMLA (vom IgA und IgG Subtyp) positiver Perikarderguss*).

Als Kontrollgruppe dienten 44 Seren klinisch gesunder Individuen der Marburger Blutbank.

3.6.1. IL-1 α Bestimmungen

Die Ergebnisse der IL-1 α Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.1-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$.

Der **Referenzwert** für IL-1 α , bestimmt durch Berechnung des 97,5%-Quantils der Messwerte der Kontrollgruppe, liegt bei 5,0 pg/ml.

	Maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-1 α im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	5 (1,5; 7)	6 (4; 8)	7 (4,5; 8)	6 (5,5; 14,5)	4 (0; 7)	3 (1,5; 3,5)
IL-1 α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3,5 (0; 5)	5 (4; 5)	6,5 (4,5; 7,5)	10 (8; 14)	0 (0; 5,25)	2 (1; 2,5)

Tab. 3.6.1-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

In folgender *Tabelle 3.6.1-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (vgl. *Abschnitt 3.2*).

	maligne n=22				
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
IL-1 α im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	5 (0,75; 6,75)	9,0	6 (3,5; 8,5)	6 (4,5; 7)	3 (1,5; 4,5)
IL-1 α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	4 (0; 5)	0,0	5 (2,5; 5,5)	5 (4,25; 5)	2,5 (1,25; 3,75)

Tab. 3.6.1-2 Ergebnisse der Zytokininanalyse der Subgruppe maligner Ergüsse \pm Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst, wie *Tabelle 3.6.1-3* zu entnehmen ist.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-1 α im PE (pg/ml) X (X _{0,25} ; X _{0,75})	5,5 (3,25; 7,75)*	6 (5,5; 8)*	3,5 (0; 5,5)*	
IL-1 α im Serum (pg/ml) X (X _{0,25} ; X _{0,75})	5 (0; 5)*	7 (6; 9,5)*	0 (0; 4,5)	0 (0; 3)

Tab. 3.6.1-3

* p < 0,05 gegenüber Kontrollwerten

In der Gruppe der Patienten mit **maligner Grunderkrankung** (Gruppe 1) ließen sich statistisch bedeutsame Unterschiede für die IL-1 α Konzentrationen im Perikarderguss als auch Serum im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigen (p<0,05). Es zeigt sich ferner ein Trend zu höheren IL-1 α Werten im Perikarderguss im Vergleich zum autologen Serum.

Bei den Patienten mit **infektiöser Ergussätiologie** (Gruppe 2) sind die IL-1 α Konzentrationen im Perikarderguss und Serum signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Bei den Patienten mit **autoreaktivem/entzündlichem** Perikarderguss zeigen die IL-1 α Werte in der Ergussflüssigkeit zwar einen signifikanten (p<0,05) Unterschied zur Kontrollgruppe, sie liegen jedoch im Median ebenso wie die Serumwerte innerhalb des Referenzbereiches.

Statistisch bedeutsame Unterschiede zwischen den in Perikarderguss und Serum gemessenen Werten innerhalb der einzelnen Gruppen sowie zwischen Perikardergüssen bzw. Seren zwischen den einzelnen Gruppen bestehen nicht.

Die IL-1 α Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.1-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.1-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

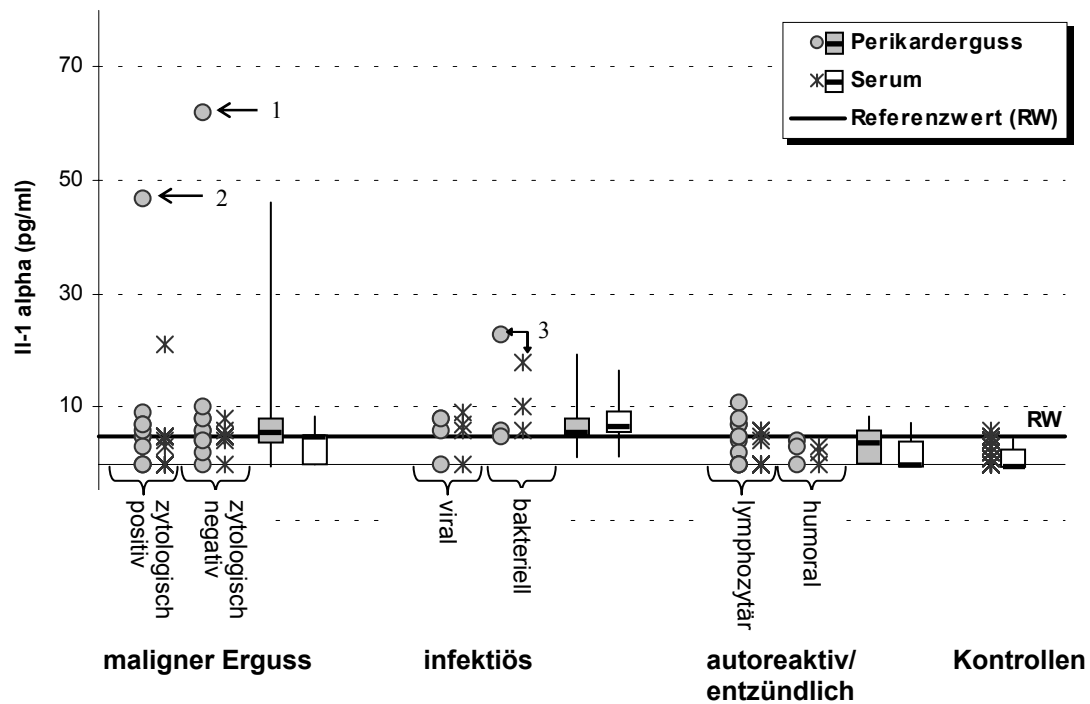


Abb.3.6.1-1: IL-1 α in Perikarderguss und Serum

Bei Betrachtung der *Abbildung 3.6.1-1* fallen die mit 1-3 bezifferten Extremwerte aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Diese sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 53 jährige Patientin mit malignem PE bei duktalem Mamma CA Stadium IIIb, Z.n. i.V. Chemotherapie nach dem FEC-Schema vor 1 Jahr (Polychemotherapie mit 5-Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamid), maligner Pleuraerguss, Z.n. Thoraxwand-Radiatio vor 1 Jahr wegen Metastasen

Ad 2: 62 jährige Patientin, maligner PE mit Tamponade bei M. Hodgkin (nodulär-sklerosierender Typ) Stadium IV (*Ann-Arbor-Klassifikation*), Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 8 Monaten, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine Chemotherapie

Ad 3: 74 jährige Patientin mit PE bei bakterieller Perimyokarditis bei Tricuspidalklappenendokarditis (Keim: Staph.aureus), Sepsis, akutes Nierenversagen

In *Tabelle 3.6.1-4* sind ergänzend die Ergebnisse der Zytokinanalysen der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen, tabellarisch dargestellt.

	Dialyseassoziiert	Trauma	Herzinsuffizienz	Kontrollen n=44
IL-1 α im Perikarderguss (pg/ml)	6	7	4	
IL-1 α im Serum (pg/ml)	3	5	0	0 (0; 3)

Tab. 3.6.1-4

3.6.2. IL-2 Bestimmungen

Die Ergebnisse der IL-2 Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in Tabelle 3.6.2-1, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$.

Der aus den Zytokinanalysen der Kontrollgruppe errechnete **Referenzwert** lag bei 77 pg/ml.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-2 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	5 (0; 18)	11 (0; 24,5)	12 (4,75; 25,25)	26 (14,5; 32)	18 (0; 32)	12 (6; 15)
IL-2 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3 (0; 14)	0 (0; 6)	12 (4,5; 25,25)	36 (18; 40)	10 (0; 38)	12 (6; 13)

Tab. 3.6.2-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

In folgender *Tabelle 3.6.2-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (vgl. *Abschnitt 3.2*).

maligne n=22					
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.V. Chemotherapie (n=2)
IL-2 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3 (0; 20,75)	14,0	22,5 (12,5; 34,25)	11 (0; 8,5)	31 (15,5; 46,5)
IL-2 im Se- rum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 17,5)	9,0	1 (0,5; 21)	0 (0; 4,5)	34 (20; 48)

Tab. 3.6.2-2 Ergebnisse der Zytokinanalyse der Subgruppe maligner Ergüsse ± Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst, wie *Tabelle 3.6.2-3* zu entnehmen ist. Statistisch bedeutsame Unterschiede zwischen Mess- und Kontrollwerten sowie innerhalb und zwischen den einzelnen Gruppen konnten nicht gezeigt werden. Keine der gemessenen IL-2 Konzentrationen lag oberhalb des Referenzwertes von 77 pg/ml.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-2 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	8 (0; 20,75)	18 (4,5; 32)	15 (0; 31,25)	
IL-2 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 9)	18 (3; 40)	12 (0; 29)	3 (0; 47)

Tab. 3.6.2-3

Eine vergleichende Darstellung der gemessenen IL-2 Werte zeigt *Abbildung 3.6.2-1*. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.2-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

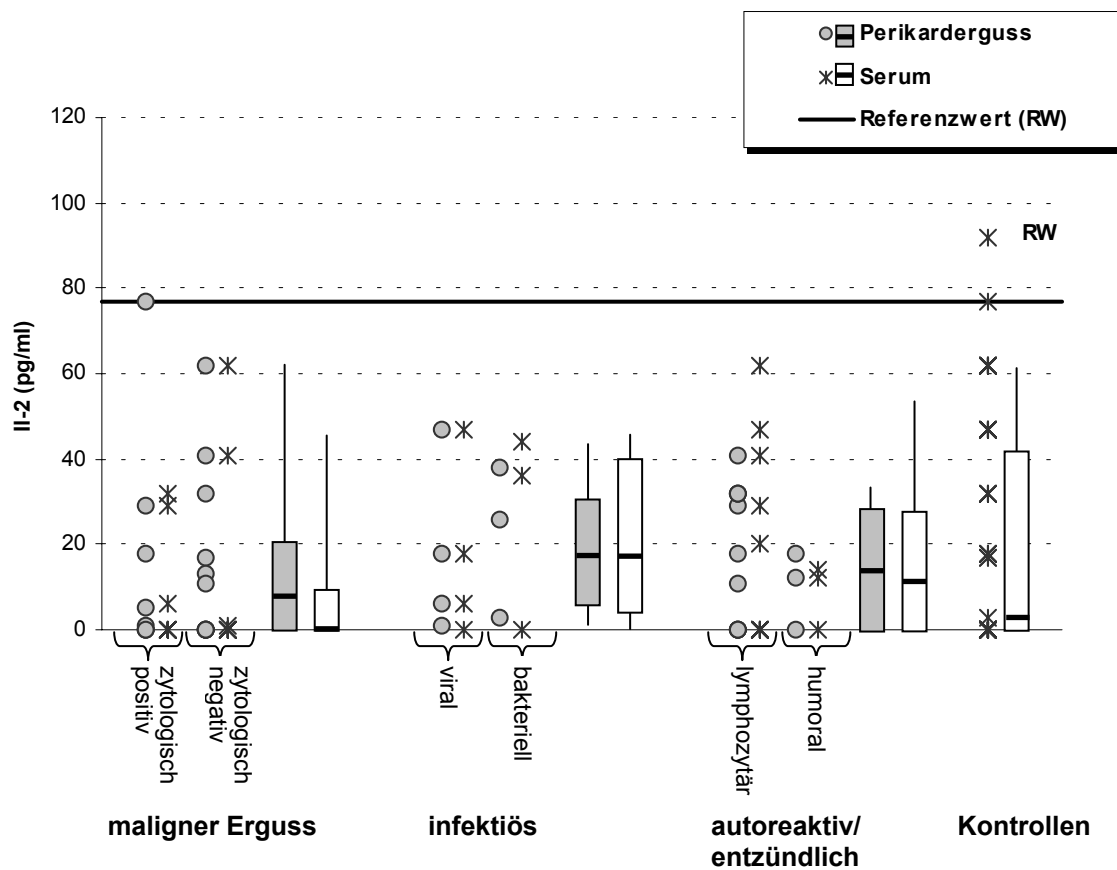


Abb.3.6.2-1: IL-2 in Perikarderguss und Serum

In *Tabelle 3.6.2-4* sind ergänzend die Ergebnisse der Zytokinanalysen der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen, tabellarisch aufgeführt.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IL-2 im Perikarderguss (pg/ml)	0	6	18	
IL-2 im Serum (pg/ml)	0	5	11	3 (0; 47)

Tab. 3.6.2-4

3.6.3. IL-6 Bestimmungen

Die Ergebnisse der IL-6 Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.3-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$.

Der **Referenzwert** für IL-6 lag bei 7,75 pg/ml.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-6 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	2060 (1731; 3017)†	1191 (895,5; 2516,5)†	1234,5 (381; 2329)	2790 (1645; 3270)	1582 (621; 1702) †	1350 (1036; 1785)
IL-6 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	53,5 (11,25; 107,25)	18 (6; 96)	38,5 (26,25; 56,25)	167 (83,5; 2484,5)	18 (11,25; 56,5)	1 (0,5; 102,5)

Tab. 3.6.3-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

In folgender *Tabelle 3.6.3-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (vgl. *Abschnitt 3.2*).

	maligne n=22				
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
IL-6 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	2197,5 (1644; 3136,5)	1923,00	405 (17,25; 1001,75)	1191 (1177,5; 2668)	1854 (1426,5; 2281,5)
IL-6 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	27 (6; 81)	129,00	6 (3; 12)	18 (26,25; 96)	85,5 (80,25; 90,75)

Tab. 3.6.3-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse ± Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst. Die Ergebnisse der IL-6 Messungen finden sich in *Tabelle 3.6.3-3* zusammengefasst.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-6 im PE (pg/ml)	1941 (1047;	1980 (494,5;	1579,5 (696,75;	
X (X _{0,25} ; X _{0,75})	2685)* †	3083)*	1776)* †	
IL-6 im Serum	27 (6; 96)*	42 (17,5;	18 (5; 62)*	0 (0; 2,5)
(pg/ml/ml)		133)*		
X (X _{0,25} ; X _{0,75})				

Tab. 3.6.3-3

* p < 0,05 gegenüber Kontrolle

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

Die Messungen von IL-6 ergaben folgendes Bild: Die Gruppe der Patienten mit **malignem** Perikarderguss zeigten im Perikarderguss hohe IL-6 Werte, wobei diese statistisch signifikant erhöht waren gegenüber dem Serumwert (p < 0,001). Sowohl die im Serum als auch die im Erguss gemessenen Konzentrationen waren statistisch signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe (p < 0,001).

In der Gruppe der Patienten mit **infektiösem** Erguss ließen sich statistisch bedeutsame Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum nicht zeigen (wobei jedoch bei Betrachtung der Subgruppen auffällt, daß die viralen Ergüsse im Gegensatz zu den bakteriellen Ergüssen relativ gesehen höhere IL-6 Konzentrationen im Perikarderguss als im autologen Serum aufwiesen). Sowohl die IL-6 Konzentrationen im Perikarderguss als auch die im Serum sind gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht (p < 0,001 beim Vergleich von Perikarderguss und Kontrollgruppe bzw. p < 0,05 beim Vergleich von Serum und Kontrollgruppe).

Bei den Patienten mit **autoreaktivem/entzündlichem** Perikarderguss zeigten sich wie in der Gruppe der Patienten mit malignem Erguss die Konzentrationen von IL-6 im Perikarderguss statistisch signifikant gegenüber denen im Serum erhöht (p < 0,001). So-

wohl die im Perikarderguss als auch die im Serum gemessenen IL-6 Werte lagen statistisch signifikant über den Kontrollwerten ($p < 0,001$).

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den IL-6 Spiegeln der Perikardergüsse bzw. Seren der einzelnen Gruppen konnten nicht nachgewiesen werden.

Die IL-6 Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.3-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.3-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

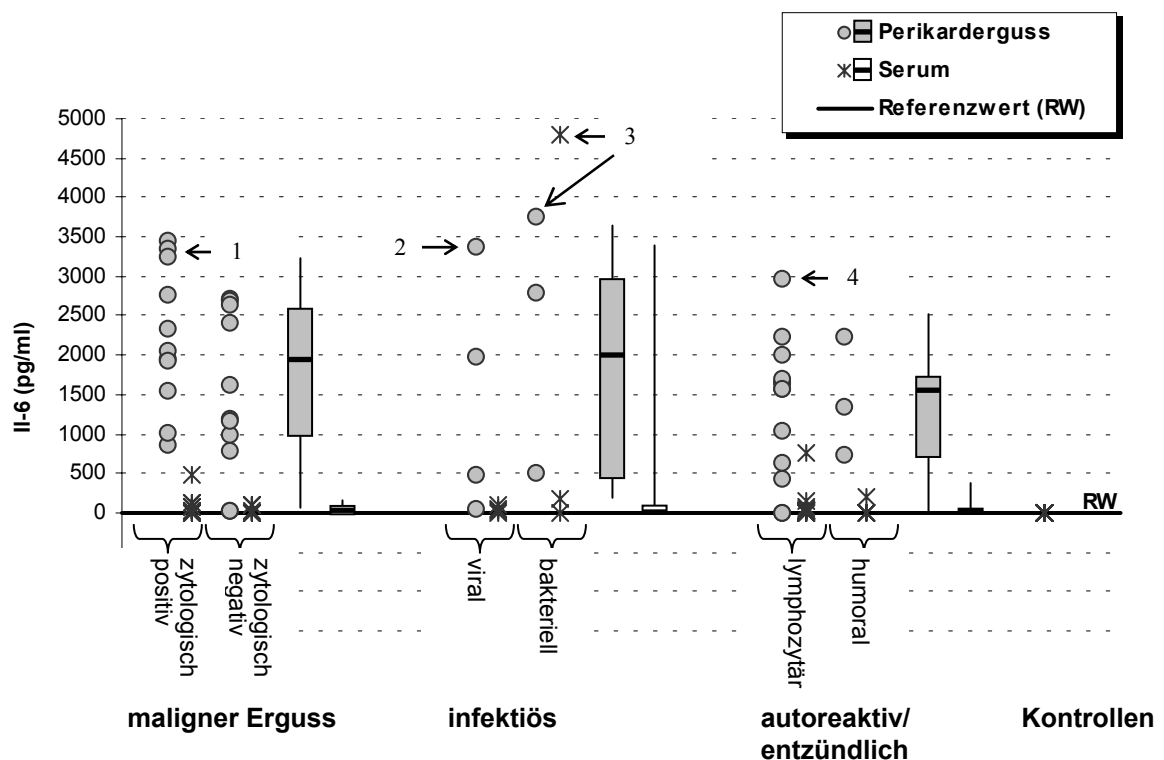


Abb. 3.6.3-1: graphische Übersicht über die gemessenen IL-6 Konzentrationen

Die in der *Abbildung 3.6.3-1* mit 1-4 bezifferten Extremwerte fallen aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Diese sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 2 Patienten, 59 und 63 Jahre alt (einer wurde ein zweites mal punktiert), mit metastasiertem Bronchial-CA (Plattenepithel- und Adeno-CA im Stadium IIIb bzw. IV), beide bis zum Zeitpunkt der Ergusspunktion (noch) nicht mediastinalbestrahlt, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine i.v. Chemotherapie (Chemotherapiebeginn geplant)

Ad 2: 54 jähriger Patient mit positivem Virusnachweis in der PCR (Zytomegalievirus)

Ad 3: 45 jähriger Patient im Rahmen einer Landouzy-Sepsis mit perikardialer Beteiligung verstorben

Ad 4: 72 jährige Patientin, fibrinöse Perikarditis, fibrin- und lymphozytenreicher PE, AMLAs im Perikarderguss negativ, ASAs im Perikarderguss positiv

In *Tabelle 3.6.3-4* sind ergänzend die Ergebnisse der Zytokinanalysen der unter *Abschnitt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen, aufgeführt.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IL-6 im Perikarderguss (pg/ml)	963	1347	1158	
IL-6 im Serum (pg/ml)	78	18	25	0 (0; 2,5)

Tab. 3.6.3-4

3.6.4. IL-8 Bestimmungen

Die Ergebnisse der IL-8 Bestimmungen der unter *Abschnitt 3.2ff* beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.4-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$.

In der Kontrollgruppe ließ sich IL-8 nicht nachweisen, der **Referenzwert** lag dementsprechend bei 0 pg/ml IL-8.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-8 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	468 (194,5; 1905,5)†	704 (255; 1786,5)†	427 (16,5; 1514,5)	2813 (1488; 3212,5)	984 (245; 1900)†	35 (17,5; 72,5)
IL-8 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	25,5 (0; 117,75)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	79 (39,5; 1850,5)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.4-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

In folgender *Tabelle 3.6.4-2* ist für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten dargestellt, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (*vgl. Abschnitt 3.2*).

maligne n=22					
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
IL-8 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	372,5 (162,75; 1473,25)	5710,00	807 (238,5; 1638,5)	704 (286,5; 1733)	644 (371,5; 916,5)
IL-8 im Se- rum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	9 (0; 72)	133,00	0 (0; 8)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.4-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse ± Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst, wie *Tabelle 3.6.4-3* zu entnehmen ist.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-8 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	586 (208,5; 2035,75)* †	832 (92,5; 3187,5)*	508,5 (31,75; 1592,5)* †	
IL-8 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 57)*	0 (0; 39,5)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.4-3

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

* p < 0,05 gegenüber Kontrolle

Bei den Patienten mit **maligner** Grunderkrankung wurde Folgendes beobachtet: Die im Perikarderguss gemessenen Werte waren gegenüber den im Serum gemessenen statis-

tisch signifikant erhöht ($p < 0,001$). Sowohl die in Perikarderguss als auch im Serum gemessenen Werte waren gegenüber der Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöht (beide $p < 0,001$).

In der Gruppe der Patienten mit **infektiöser** Ergussätiologie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum. Statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe ließen sich nur für den Perikarderguss zeigen ($p < 0,001$). Es fällt jedoch bei Betrachtung der Subgruppen auf, daß in den viralen Ergüssen deutlich erhöhte IL-8 Spiegel im Perikarderguss zu finden sind, während IL-8 im autologen Serum nicht nachweisbar war.

Die IL-8 Bestimmungen in der Gruppe der Patienten mit **autoreaktivem/entzündlichem** Erguss zeigten zwischen Perikarderguss und Serum statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$). Die IL-8 Werte im Perikarderguss waren statistisch signifikant erhöht gegenüber den in der Kontrollgruppe gemessenen Werten ($p < 0,001$).

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bezüglich der in Perikardergüssen bzw. Seren gemessenen Werten ließen sich nicht nachweisen. Auffallend ist jedoch bei Betrachtung der Subgruppen die relativ geringe IL-8 Konzentration in den Perikardergüssen der Patienten mit autoreaktiver/humoraler Ergussgenese, im autologen Serum dieser Subgruppe war IL-8 nicht nachweisbar.

Die IL-8 Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.4-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.4-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

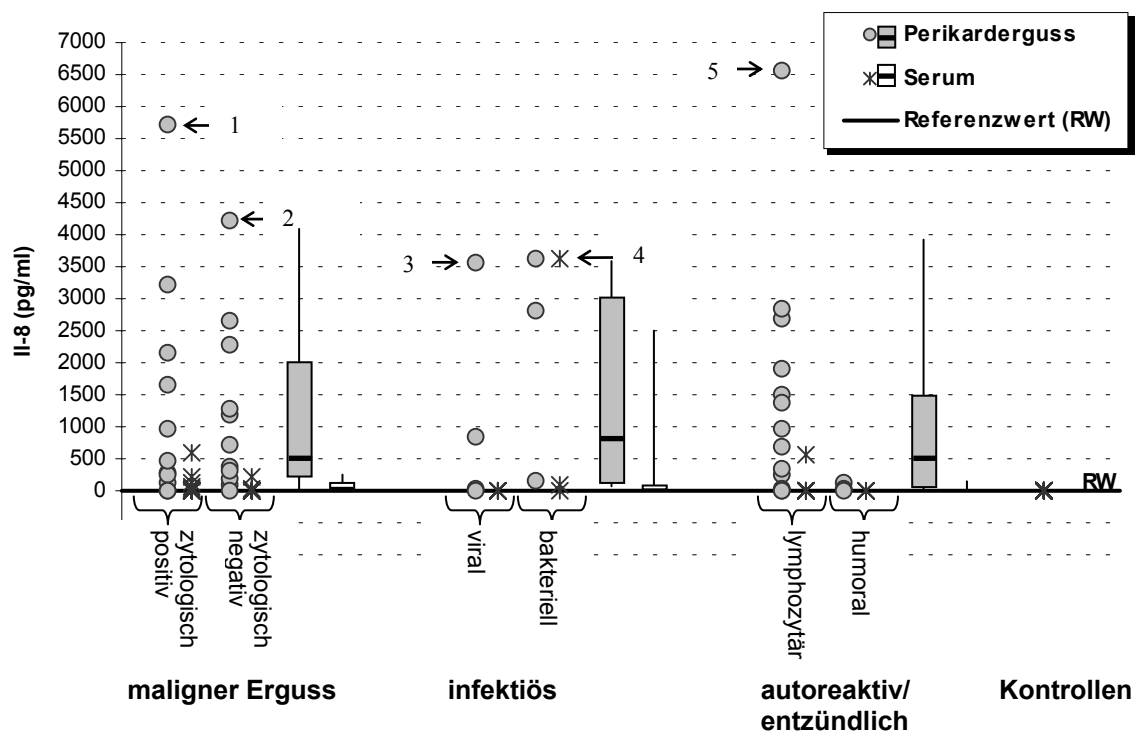


Abb. 3.6.4-1: graphische Übersicht über die gemessenen IL-8 Konzentrationen

Die in der *Abbildung 3.6.4-1* mit 1-6 bezifferten Extremwerte fallen aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Die einzelnen Werte werden im Folgenden durch klinische Daten kommentiert:

Ad 1: 62 jährige Patientin, maligner PE mit Tamponade bei M. Hodgkin (nodulär-sklerosierender Typ) Stadium IV (*Ann-Arbor-Klassifikation*), Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 8 Monaten, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine Chemotherapie

Ad 2: 53 jährige Patientin mit malignem PE bei duktalem Mamma CA Stadium IIIb, Z.n. i.V. Chemotherapie nach dem FEC-Schema vor 1 Jahr (Polychemotherapie mit 5-Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamid), maligner Pleuraerguss, Z.n. Thoraxwand-Radiatio vor 1 Jahr wegen Metastasen

Ad 3: 54 jähriger Patient mit positivem Virusnachweis in der PCR (Adenovirus)

Ad 4: 45 jähriger Patient im Rahmen einer Landouzy-Sepsis mit perikardialer Beteiligung verstorben

Ad 5: 15 jährige Patientin mit leuko-/lymphozytärem Perikarderguss, kein Nachweis von Autoantikörpern, kein Nachweis von Rheumafaktoren, kein Hinweis auf juvenile chronische Arthritis/Morbus Still, ASAs und AMLAs im Serum und Perikarderguss negativ

In *Tabelle 3.6.4-4* sind ergänzend die Ergebnisse der Zytokinanalysen der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen, tabellarisch aufgeführt.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IL-8 im Perikarderguss (pg/ml)	1532	194	657	
IL-8 im Serum (pg/ml)	679	0	48	0

Tab. 3.6.4-4

3.6.5. IL-10 Bestimmung

Die Ergebnisse der IL-10 Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.5-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$. In der Kontrollgruppe wurden ein **Referenzwert** von 8 pg/ml IL-10 bestimmt.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-10 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	27 (20; 38)	37,5 (28; 78,75)†	39 (27,75; 138)	38 (24,5; 55)	42 (16; 61)†	4 (4; 12)
IL-10 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 15,5)	10 (0; 16)	13 (6; 22,5)	64 (35; 143)	7,5 (0,75; 10,5)	18 (9; 28)

Tab. 3.6.5-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

In folgender *Tabelle 3.6.5-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (*vgl. Abschnitt 3.2*).

	maligne n=22				
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
IL-10 im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	25,5 (19; 33,75)	82,00	89 (58,5; 119,5)	37,5 (23; 46,5)	29 (28,5; 29,5)
IL-10 im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 14)	16,00	8 (4; 11)	10 (2,5; 20,5)	21,5 (18,75; 24,25)

Tab. 3.6.5-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse ± Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst, wie *Tabelle 3.6.5-3* zu entnehmen ist.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-10 im PE (pg/ml)	28 (22; 48)* †	38 (27,5;	32 (14,5;	
X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)		61)*	51,25)* †	
IL-10 im Serum (pg/ml)	8 (0; 16)	18 (7; 50)*	8 (0,5; 15)*	3 (0; 6)
X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)				

Tab. 3.6.5-3

* $p < 0,05$ gegenüber Kontrolle

† $p < 0,05$ gegenüber autologem Serum

Die IL-10 Bestimmungen ergaben folgendes Bild: Bei den Patienten mit **maligner** Grunderkrankung wurden statistisch signifikant erhöhte Werte im Perikarderguss im Vergleich zum autologen Serum ($p < 0,05$) und gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,001$) gemessen.

Bei den Patienten mit **infektiösem** Erguss war sowohl der im Perikarderguss als auch der im Serum gemessene Wert statistisch signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Signifikante Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum bestanden für die Gesamtgruppe nicht, wobei jedoch bei Betrachtung der Subgruppen auffällt, daß die viralen Ergüsse im Median deutlich höhere IL-10 Konzentrationen im Perikarderguss als im Serum aufweisen.

In der Gruppe der Patienten mit **autoreaktivem/entzündlichem** Erguss waren die im Perikarderguss gemessenen IL-10 Spiegel statistisch signifikant erhöht gegenüber denen im Serum ($p < 0,05$). Sowohl die in Perikarderguss als auch die im Serum bestimmten Werte waren statistisch signifikant erhöht gegenüber den in der Kontrollgruppe gemessenen ($p < 0,05$).

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bezüglich der in Perikardergüssen bzw. Seren gemessenen IL-10 Konzentrationen ließen sich nicht nachweisen. Die IL-10 Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.5-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.5-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

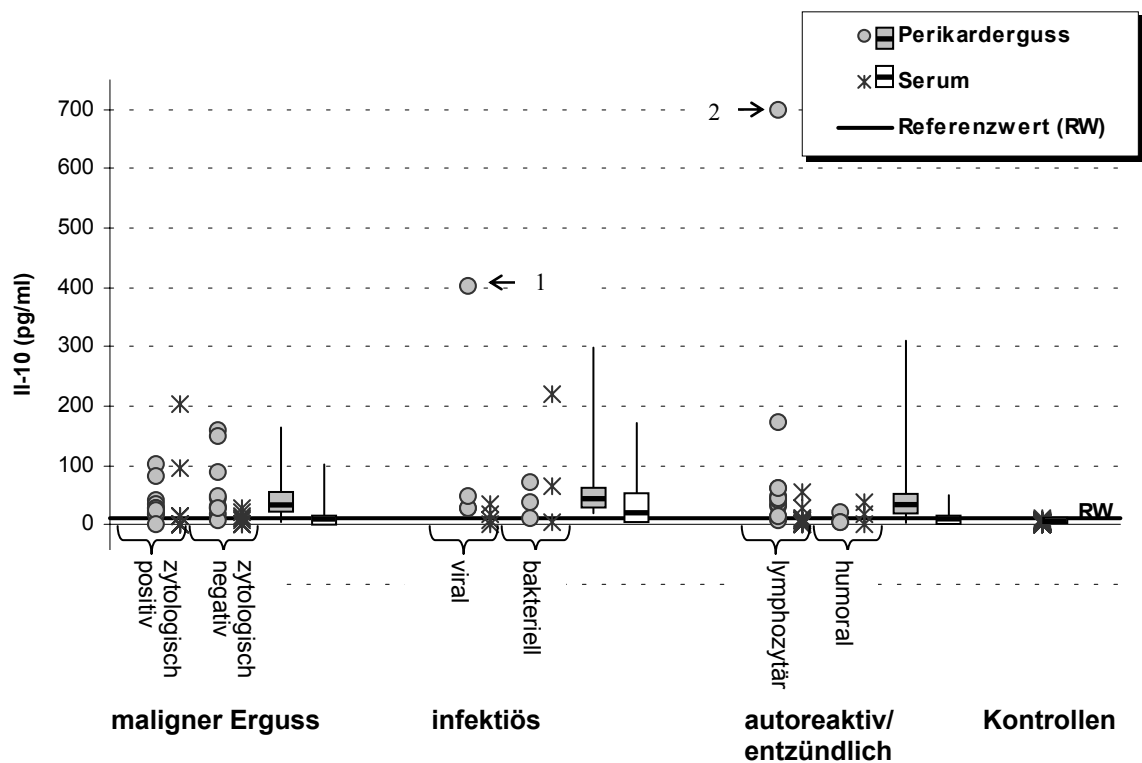


Abb. 3.6.5-1: vergleichende Darstellung der gemessenen IL-10 Werte

Bei der Betrachtung der *Abbildung 3.6.5-1* fallen die mit 1 und 2 bezifferten Extremwerte aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Diese sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 53 jährige Patientin mit positivem Virusnachweis in der PCR (Adenovirus)

Ad 2: 15 jährige Patientin mit leuko-/lymphozytärem Perikarderguss, kein Nachweis von Autoantikörpern, kein Nachweis von Rheumafaktoren, kein Hinweis auf juvenile chronische Arthritis/Morbus Still, ASAs und AMLAs im Serum und Perikarderguss negativ

In *Tabelle 3.6.5-4* sind ergänzend die Ergebnisse der Zytokinanalysen der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen, tabellarisch dargestellt.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IL-10 im Perikarderguss (pg/ml)	37	38	45	
IL-10 im Serum (pg/ml)	8	26	35	3 (0; 6)

Tab. 3.6.5-4

3.6.6. TNF- α Bestimmungen

Die Ergebnisse der TNF- α Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.6-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$.

In der Kontrollgruppe wurde ein **Referenzwert** von 4,1 pg/ml TNF- α bestimmt.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
TNF- α im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 11)	6 (0,25; 11,75)†	11,5 (3; 37,25)	74 (37; 334,5)	4 (0; 7) †	0 (0; 0)
TNF- α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 0,75)	0 (0; 0)	18 (2,25; 44,25)	0 (0; 64)	0 (0; 0,25)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.6-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

† p < 0,05 gegenüber autologem Serum

In folgender *Tabelle 3.6.6-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (*vgl. Abschnitt 3.2*).

	maligne n=22				
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
TNF- α im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 7)	732,00	4 (2,5; 6)	6 (0; 17,5)	4 (2; 6)
TNF- α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 0)	1,00	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.6-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse \pm Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst, wie *Tabelle 3.6.6-3* zu entnehmen ist.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
TNF- α im Perikarderguss (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	4 (0; 13) * †	19 (2; 83)*	0 (0; 7)*	
TNF- α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	0 (0; 0)	3 (0; 55,5)*	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.6-3

* $p < 0,05$ gegenüber Kontrolle

† $p < 0,05$ gegenüber autologem Serum

Die TNF- α Spiegel waren in der Gruppe der Patienten mit **maligner** Grunderkrankung im Perikarderguss gegenüber den Serumwerten und den Kontrollwerten statistisch signifikant erhöht ($p < 0,05$).

In der Gruppe der Patienten mit **infektiöser** Ergussätiologie waren sowohl die im Erguss als auch die im Serum gemessenen Werte statistisch signifikant erhöht gegenüber den in der Kontrollgruppe gemessenen Werten ($p < 0,05$). Signifikante Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum bestanden nicht.

Bei den Patienten mit **autoreaktiver/entzündlicher** Ergussätiologie waren die im Perikarderguss gemessenen Werte gegenüber den Kontrollwerten statistisch signifikant erhöht ($p < 0,05$).

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bezüglich der in Perikardergüssen bzw. Seren gemessenen TNF- α Konzentrationen ließen sich nicht nachweisen.

Die TNF- α Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.6-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.6-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

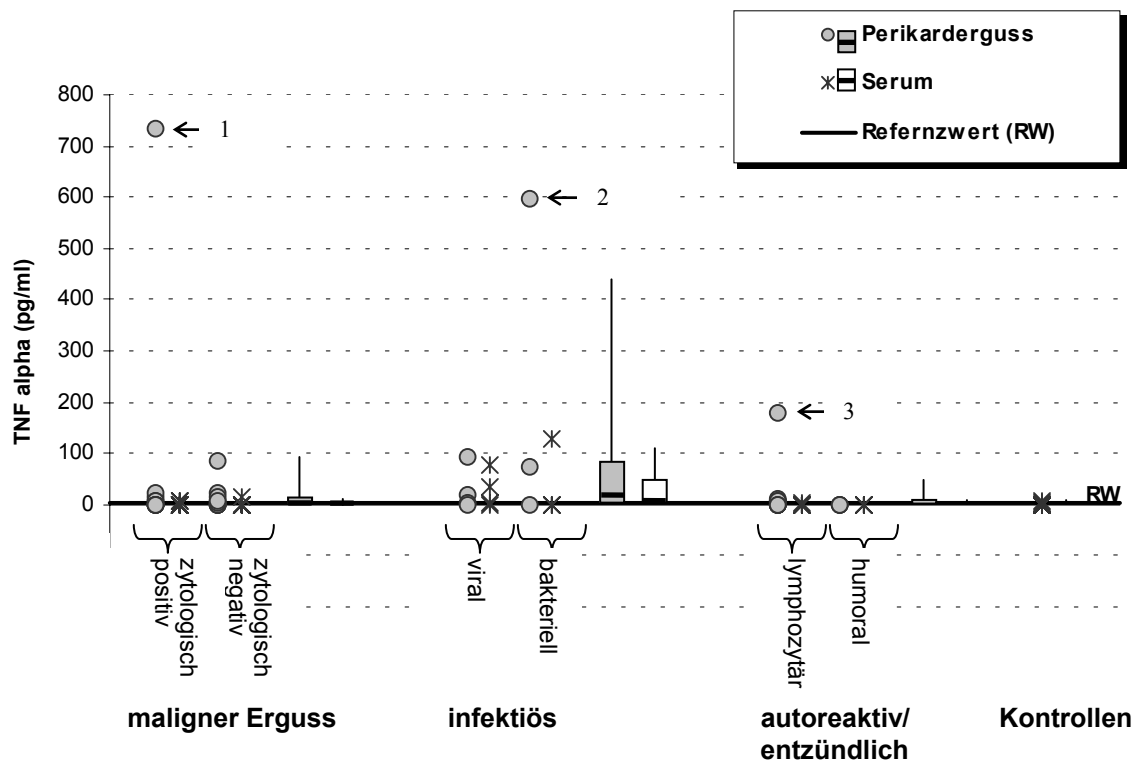


Abb. 3.6.6-1: vergleichende Darstellung der gemessenen TNF- α Werte

Die mit 1,2 und 3 bezifferten Extremwerte fallen aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus und sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 62 jährige Patientin, maligner PE mit Tamponade bei M. Hodgkin (nodulär-sklerosierender Typ) Stadium IV (*Ann-Arbor-Klassifikation*), Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 8 Monaten, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine Chemotherapie

Ad 2: 74 jährige Patientin mit PE bei bakterieller Perimyokarditis bei Tricuspidalklappenendokarditis (Keim: Staph.aureus), Sepsis, akutes septisches Nierenversagen

Ad 3: 15 jährige Patientin mit leuko-/lymphozytärem Perikarderguss, kein Nachweis von Autoantikörpern, kein Nachweis von Rheumafaktoren, kein Hinweis auf juvenile chronische Arthritis/Morbus Still, ASAs und AMLAs im Serum und Perikarderguss negativ

Ergänzend findet sich in *Tabelle 3.6.6-4* eine Darstellung der Ergebnisse der TNF- α Bestimmung der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
TNF- α im Perikarderguss (pg/ml)	4	0	5	
TNF- α im Serum (pg/ml)	0	0	0	0

Tab. 3.6.6-4

3.6.7. IFN- γ Bestimmungen

Die Ergebnisse der Bestimmungen der oben beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.7-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$. Der **Referenzwert** für IFN- γ lag bei 29,0 pg/ml.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IFN- γ im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	8 (0; 35)	16 (1,5; 58)	1 (0; 2)	40 (28; 102,5)	52,5 (28,25; 54,75)	7,5 (5,25; 9,75)
IFN- γ im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	7 (2,25; 86)	3 (0; 32)	23,5 (9,5; 85)	16 (8; 141,5)	16 (3; 63)	0 (0; 0)

Tab. 3.6.7-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

In folgender *Tabelle 3.6.7-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (*vgl. Abschnitt 3.2*).

maligne n=22					
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.v. Chemotherapie (n=2)
IFN- γ im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	9,5 (0; 44,25)	8,00	30 (12,75; 47)	16 (0; 92,5)	117 (88,5; 145,5)
IFN- γ im Se- rum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	7 (1,5; 94)	7,00	0 (0; 121,5)	3 (0,75; 25,75)	35 (21; 49)

Tab. 3.6.7-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse \pm Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst. *Tabelle 3.6.7-3* gibt eine Übersicht über die gemessenen IFN- γ Werte.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IFN- γ im Perikard- erguss (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	14 (0; 57)	2 (1; 28)	43,5 (15; 54,25)	
IFN- γ im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	7 (0; 63)	16 (7; 135)	16 (1; 58)	24 (0; 26)

Tab. 3.6.7-3

Bei den IFN- γ Bestimmungen ergab sich folgendes Bild: Statistisch signifikante Unterschiede zwischen Perikarderguss und autologem Serum sowie zwischen Perikarderguss/Serum und Kontrollgruppe konnten in keiner der Gruppen gezeigt werden.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bezüglich der in Perikardergüssen bzw. Seren gemessenen Werten ließen sich nicht nachweisen.

Die IFN- γ Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.7-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.7-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

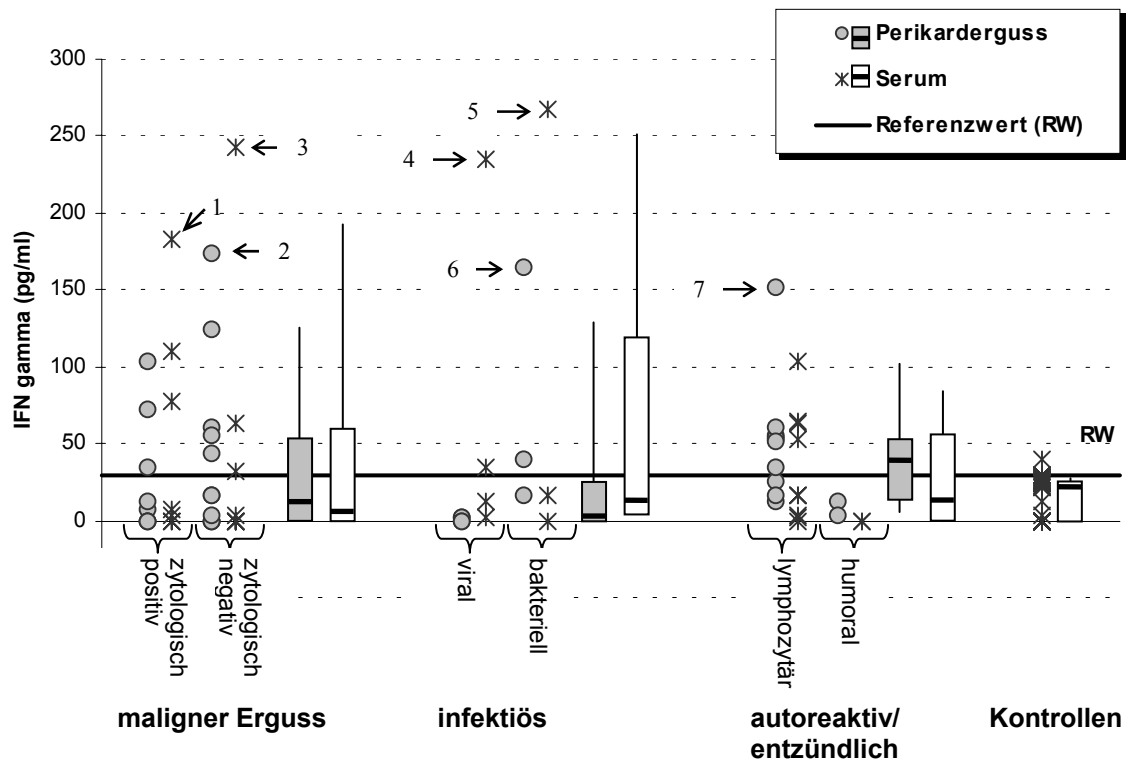


Abb. 3.6.7-1: graphische Übersicht über die bestimmten IFN- γ Werte

Bei Betrachtung der *Abbildung 3.6.7-1* fallen die mit 1-7 bezifferten Extremwerte aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Diese sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 59 jähriger Patient mit metastasiertem Bronchial-CA (Adeno-CA), bis zum Zeitpunkt der Ergusspunktion (noch) nicht mediastinalbestrahlt, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine i.v. Chemotherapie (Chemotherapiebeginn geplant)

Ad 2: 30 jährige Patientin mit M. Hodgkin Stadium IVb, Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 14 Monaten, zum Zeitpunkt der Perikardergusspunktion Chemotherapie nach CEVD-Schema (CCNU (Lomustin), Etoposid, Vindesin und Dexamethason)

Ad 3: 69 jähriger Patient mit fortgeschrittenem Bronchial-CA Stadium IIIb (Adenokarzinom), bis zum Zeitpunkt der Ergusspunktion (noch) nicht mediastinalbestrahlt, zum

Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine i.v. Chemotherapie (Chemotherapiebeginn geplant)

Ad 4: 54 jähriger Patient mit positivem Virusnachweis in der PCR (Zytomegalievirus)

Ad 5 u. 6: 45 jähriger Patient im Rahmen einer Landouzy-Sepsis mit perikardialer Beteiligung verstorben

Ad 7: 60 jährige Patientin mit überwiegend lympho- und monozytären Zellen im Perikarderguss, AMLAs und ASAs negativ

Ergänzend findet sich in *Tabelle 3.6.7-4* eine Darstellung der Ergebnisse der IFN- γ Bestimmung der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IFN- γ im Perikarderguss (pg/ml)	44	0	0	
IFN- γ im Serum (pg/ml)	72	44	0	24 (0; 26)

Tab. 3.6.7-4

3.6.8. IL-2 sR α Bestimmungen

Die Ergebnisse der IL-2 sR α Bestimmungen der unter *Abschnitt 3.2ff* beschriebenen Subgruppen in Perikardergüssen und Seren finden sich zusammengefasst in *Tabelle 3.6.8-1*, dargestellt als Mediane, in Klammern die Quartile $X_{0,25}$ und $X_{0,75}$. Der **Referenzwert** für IL-2 sR α lag bei 2101,68 pg/ml.

	maligne n=22		infektiös n=7		autoreaktiv/ entzündlich n=16	
	zytologisch positiv (n=11)	zytologisch negativ (n=11)	viral (n=4)	bakteriell (n=3)	zellulär (n=13)	humoral (n=3)
IL-2 sR α im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3939 (1913; 4789,5)	3306 (2908; 5082,5)	2007,5 (1456,75; 2816,75)	5083 (3823,5; 5695)	3623 (2180; 4279)	1625 (1525; 1830,5)
IL-2 sR α im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	2471 (1644,5; 4213,75)	3256 (2034; 4038)	866 (776,75; 1150,75)	6506 (4022,5; 6510,5)	2682,5 (1771,5; 2860,75)	1013 (915,5; 1099,5)

Tab. 3.6.8-1 Ergebnisse der Zytokinanalysen nach Subgruppen

In folgender *Tabelle 3.6.8-2* findet sich für die Subgruppe der malignen Ergüsse zusätzlich eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war sowie eine getrennte Darstellung der Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Ergusspunktion eine i.v. Chemotherapie durchgeführt wurde (*vgl. Abschnitt 3.2*).

maligne n=22					
	zytologisch positiv, keine Radiatio (n=10)	zytologisch positiv, Z.n. Radiatio (n=1)	zytologisch negativ, keine Radiatio (n=4)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio (n=7)	zytologisch negativ, Z.n. Radiatio & i.V. Chemotherapie (n=2)
IL-2 sRα im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3526 (1903; 4568,25)	5030,00	5251 (4094,5; 6040,5)	3306 (2616; 3952)	4036,5 (3185,25; 4887,75)
IL-2 sRα im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	2131 (1497; 3928)	4471,00	2581 (1814,5; 2918,5)	3256 (2416,5; 5115)	4760,5 (4162,25; 5358,75)

Tab. 3.6.8-2 Ergebnisse der Zytokinanalysen der Subgruppe maligner Ergüsse ± Radiatio und Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion

Für statistische Vergleiche wurden die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen zusammengefasst.

Tabelle 3.6.8-3 gibt eine Übersicht über die gemessenen IL-2 sRα Konzentrationen.

	maligne n=22	infektiös n=7	autoreaktiv/ entzündlich n=16	Kontrollen n=44
IL-2 sRα im PE (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	3327 (2334; 4907)*	2564 (2007,5; 4609,5)	2886 (1658,75; 4201,75)*	
IL-2sRα im Serum (pg/ml) X ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$)	2811 (1765,5; 4173,5)*	1539 (866; 4254)	2316 (1176,5; 2789)*	1224 (769; 1514,25)

Tab. 3.6.8-3

* p < 0,05 gegenüber Kontrolle

In der Gruppe der Patienten mit **malignem** Erguss waren sowohl die Konzentrationen im Perikarderguss als auch im Serum statistisch signifikant erhöht gegenüber den Kon-

trollwerten ($p < 0,001$), signifikante Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum bestanden nicht.

Bei den Patienten mit **infektiöser** Ergussätiologie ließen sich weder signifikante Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum noch zwischen Perikarderguss/Serum und Kontrollen nachweisen.

In der Gruppe der Patienten mit **autoreaktiver/entzündlicher** Ergussätiologie waren die in Perikarderguss und Serum gemessenen Konzentrationen statistisch signifikant erhöht gegenüber den in der Kontrollgruppe gemessenen Werten ($p < 0,001$). Unterschiede zwischen Perikarderguss und Serum waren nicht nachzuweisen.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bezüglich der in Perikardergüssen und Seren gemessenen Konzentrationen waren nicht nachzuweisen.

Die IL-2 sR α Spiegel sind vergleichend für alle Gruppen und Kontrollen in *Abbildung 3.6.8-1* dargestellt. Die Box-Plots entsprechen den Werten aus *Tab. 3.6.8-3*, wobei die horizontale Linie den Median, die Box den Bereich zwischen der 25%-Perzentile und der 75%-Perzentile begrenzt und die vertikalen Striche die 5. und 95. Perzentile markieren.

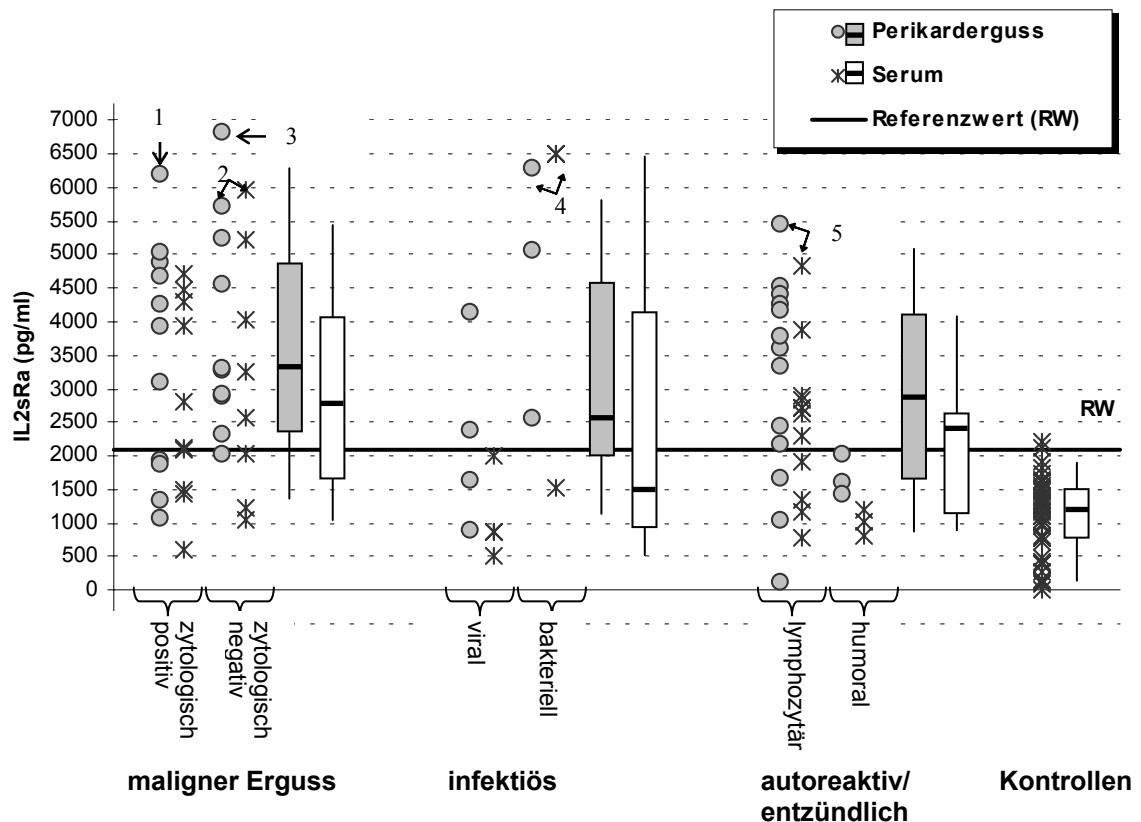


Abb. 3.6.8-1: vergleichende Darstellung der gemessenen IL-2 sR α Werte

Bei Betrachtung der *Abbildung 3.6.8-1* fallen die mit 1-4 bezifferten Extremwerte aus dem Bereich der 95. Perzentile deutlich heraus. Diese sollen im Folgenden durch klinische Daten kommentiert werden:

Ad 1: 63 jähriger Patient, Bronchial-CA (unverhorntes Plattenepithel-CA), nicht mediastinalbestrahlt, zum Zeitpunkt der Ergusspunktion keine i.v. Chemotherapie (Chemotherapiebeginn geplant)

Ad 2: 30 jährige Patientin mit M. Hodgkin Stadium IVb, Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 14 Monaten, zum Zeitpunkt der Perikardergusspunktion Chemotherapie nach CEVD-Schema (CCNU (Lomustin), Etoposid, Vindesin und Dexamethason)

Ad 3: 62 jährige Patientin, maligner PE mit Tamponade bei M. Hodgkin (nodulär-sklerosierender Typ) Stadium IV (*Ann-Arbor-Klassifikation*), Z.n. Mediastinalbestrahlung vor 8 Monaten, zum Zeitpunkt/in den Wochen vor der Ergusspunktion keine Chemotherapie

Ad 4: 45 jähriger Patient im Rahmen einer Landouzy-Sepsis mit perikardialer Beteiligung verstorben

Ad 5: 15 jährige Patientin mit leuko-/lymphozytärem Perikarderguss, kein Nachweis von Autoantikörpern, kein Nachweis von Rheumafaktoren, kein Hinweis auf juvenile chronische Arthritis/Morbus Still, ASAs und AMLAs im Serum und Perikarderguss negativ

Ergänzend findet sich in *Tabelle 3.6.8-4* eine Darstellung der Ergebnisse der IL-2 sR α Bestimmung der unter *Punkt 3.5* beschriebenen Patienten, die sich den o.g. Hauptgruppen nicht zuordnen ließen.

	Dialyseas- soziiert	Trauma	Herzinsuffi- zienz	Kontrollen n=44
IL-2 sR α im Perikarder- guss (pg/ml)	1872	1715	1657	
IL-2 sR α im Serum (pg/ml)	3604	2227	2365	1224 (769; 1514,25)

Tab. 3.6.8-4

4. Diskussion

4.1. Hintergrund

Perikardiale Erkrankungen kommen im Rahmen vieler verschiedener Erkrankungen vor. Seit Einführung der Echokardiographie in die klinische Routinediagnostik bereitet der alleinige Nachweis eines Perikardergusses im klinischen Alltag keine Probleme mehr, wesentlich schwieriger gestaltet sich häufig jedoch die Abklärung der Ursache, die zum Auftreten des Perikardergusses geführt hat. In großen prospektiven Studien wie z.B. von *Permanyer-Miralda et al 1985* wird nicht selten bei der Mehrheit der Patienten die Diagnose einer sogenannten idiopathischen Perikarditis gestellt. Die Nützlichkeit der Analyse perikardialer Ergüsse wird kontrovers diskutiert (*Garcia et al 1994*). Trotz weit verbreiteter Möglichkeiten, perikardiale Ergüsse nicht nur klinisch-chemisch, sondern auch zytologisch zu untersuchen, ist die Wertigkeit der Zytologie zu diesem Zeitpunkt unklar, schwanken doch die Angaben bezüglich ihrer diagnostischen Aussagekraft zwischen 24% bzw. 26% der Fälle (*Krikorian et al 1978 und Corey et al 1993*) und 87% der untersuchten Fälle (*Meyers et al 1997*). Die Zahlen verdeutlichen, wie inadäquat die gängigen klinischen Methoden in der Analyse perikardialer Ergüsse sind. Mit dem Einzug immunologischer und molekularbiologischer Methoden in die Diagnostik perikardialer Erkrankungen sowie neuer Möglichkeiten in der Perikardioskopie (*Seferovic et al 1999 und Maisch et al 2000*) konnten nicht nur hinsichtlich der Klärung ätiologischer Fragestellungen, sondern auch im Hinblick auf therapeutische Vorgehensweisen neue Möglichkeiten eröffnet werden (*siehe Abschnitt 1.3*).

Viele humane Studien und tierexperimentelle Arbeiten, die im Rahmen der Besprechung der Ergebnisse der Zytokinmessungen diskutiert werden, zeigen, daß Zytokine unter einer Vielzahl von pathologischen Bedingungen in die Dynamik inflammatorischer Reaktionen entscheidend eingreifen und die Reaktionen des spezifischen und unspezifischen Immunsystems, aber auch anderer Zellen, nachhaltig beeinflussen.

Die zahlreichen Berichte über den Nachweis von Zytokinen in entzündlichen Exsudaten unterschiedlichster Genese gaben den Anlass zur Planung dieser Arbeit, bei der geprüft werden sollte, ob die Bestimmung von Zytokinen in Perikardergüssen Rückschlüsse auf die vorliegende Grunderkrankung erlaubt und ferner autoimmune, pro- und antiinflammatorische Mechanismen besser verstanden werden können.

4.2. Diskussion der Methoden

4.2.1. Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)

Der Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) ist ein zuverlässiges Verfahren zur Bestimmung von löslichen Zytokinen in verschiedenen Körperflüssigkeiten, welches den quantitativen Nachweis sehr geringer Konzentrationen (<1 pg/ml) eines Zytokins erlaubt. Das Verfahren wurde ausgewählt, weil der ELISA gegenüber nicht-immunologischen Nachweisverfahren wie z.B. Bioassays den Vorteil der hohen Spezifität und einfachen Durchführbarkeit besitzt. Für diese Arbeit wurden kommerziell erhältliche ELISAs verwendet, wobei der Hersteller für reliable und valide Messergebnisse garantierte. Folgende methodische Aspekte sind jedoch zu bedenken:

Zytokine sind extrem pleiotrope Proteine mit redundanter Wirkung, die ihre wesentlichen biologischen Effekte nicht nur auf endokrinen, sondern auch auf auto- und parakrinen Wegen entfalten. Zytokine können also möglicherweise noch in wesentlich niedrigeren Konzentrationen biologische Wirkungen erzielen, als zur Zeit von gängigen ELISA-Systemen gemessen werden kann. Ferner ist zu bedenken, daß lokal sezernierte Zytokine im Rahmen von Entzündungsreaktionen durch exsudative Prozesse oder durch Eintritt in die Blutzirkulation o.ä. zusätzlich verdünnt werden können. Grundsätzlich besitzen Studien dieser Art, bei denen Zytokine in venösen Proben und entzündlichen Ergüssen bestimmt werden, den Nachteil der methodenabhängigen Nachweisgrenze, im Fall der hier vorliegenden Arbeit um oder unter 1 pg/ml, womit der subtileren Analyse von Regulationsmustern eine Grenze gesetzt wird. Molekularbiologische Analyseverfahren wie die PCR wären hier möglicherweise im Vorteil, hätten aber wiederum den Nachteil, nicht zu erfassen, ob die in der PCR nachgewiesene mRNA auch tatsächlich in das Proteinprodukt (=Zytokin) übersetzt wird.

4.2.2. Lagerungsstabilität der Zytokine

Durch Einfrieren und Lagern der Perikardergüsse und Seren bei -80 °C wäre eine Abnahme der Zytokinkonzentration denkbar, die eine valide Zytokinbestimmung nicht mehr ermöglichen würde. Aus diesem Grund wurde die Lagerungsstabilität der Zytokine untersucht. Wesentliche Konzentrationsverluste konnten (*siehe Abschnitt 3.5*) für IL-6, IL-8, IL-10 und IL-2 sR α weder im Perikarderguss noch im Serum detektiert werden,

sodass man für diese Zytokine eine hinreichende Stabilität vermuten kann. Für TNF- α , IFN- γ , IL-1 α und IL-2 ist eine umgehende Bestimmung erforderlich.

4.3. Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden Zytokine in Perikardergüssen unterschiedlichster Ätiologie untersucht. Zur Zytokinanalyse standen insgesamt 48 Perikardergüsse und Seren von 40 verschiedenen Patienten zur Verfügung. Es wurden 22 Ergüsse maligner Ätiologie (*Gruppe 1*), 7 Ergüsse infektiöser Ätiologie (*Gruppe 2*) und 16 Ergüsse autoreaktiver/entzündlicher Genese (*Gruppe 3*) untersucht.

Wie zuvor geschildert wurden die Perikardergüsse bezüglich Ihrer Ätiologie in weitere Subgruppen unterteilt: Bei Patienten mit maligner Grunderkrankung wurden die Ergebnisse der Zytokinanalysen in eine Gruppe mit zytologisch bzw. bioptisch gesicherter Perikardinfiltration sowie in eine Gruppe mit maligner Grunderkrankung aber fehlendem zytologischen/bioptischen Tumornachweis eingeteilt. Ferner erfolgte für diese Subgruppen eine getrennte Betrachtung der Zytokinanalysen von solchen Patienten, bei denen eine Mediastinalbestrahlung durchgeführt worden war (differentialdiagnostisch käme hier eine radiogene Ergussgenese in Betracht) sowie von Patienten, bei denen eine intravenöse Chemotherapie zum Zeitpunkt der Ergusspunktion durchgeführt wurde (hier wäre unter anderem an eine Interaktion der gegebenen Chemotherapeutika mit Zellen des Immunsystems und damit der Zytokinproduktion zu denken). Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß *Porte et al 1999* zeigen konnten, daß bei bis zu 60% der Patienten mit maligner Grunderkrankung der Perikarderguss durch nicht-maligne Erkrankungen wie z.B. Bestrahlungsfolgen (strahleninduzierte Perikarditis) aber auch opportunistische Infektionen verursacht sein kann.

Die Patienten der Gruppe mit infektiöser Ergussätiologie wurde in eine Subgruppe mit viraler Ergussätiologie sowie in eine mit bakterieller Ergussätiologie unterteilt.

Die Patienten mit Perikarderguss, bei denen eine autoreaktive bzw. entzündliche Genese der Perikardergussentstehung vorlag, wurden unterteilt in Patienten mit lympho-/monozytärem Perikarderguss (*autoreaktiver lymphozytärer Typ*) sowie in Antikörpervermittelte Perikardergüsse (*B-Zell-vermittelter, ASA- und AMLA (vom IgA und IgG Subtyp) positiver Perikarderguss*).

Drei Patienten ließen sich keiner der zuvor genannten Gruppen zuordnen (ein Patient mit dialyseassoziierte Perikarditis, ein Patient mit traumatischer Perikarditis nach ei-

nem Verkehrsunfall und ein Patient mit Perikarderguss im Rahmen einer Linksherzdekompensation), statistische Tests bzw. statistische Vergleiche mit den Gruppen 1-3 sind aufgrund der Einzeldaten nicht möglich.

Als Kontrollgruppe dienten 44 Seren klinisch gesunder Individuen der Marburger Blutbank.

Da vergleichbare Arbeiten zum Thema der Zytokinanalyse in perikardialen Ergussflüssigkeiten fehlen, ist eine vergleichende Betrachtung nur mit Arbeiten ähnlicher Aufgabenstellung möglich (z.B. Zytokine in Seren von Patienten mit entzündlichen Herzmuskelerkrankungen oder Zytokine in Pleuraergüssen maligner Genese u.ä.).

4.3.1. Interleukin-1 α

IL-1 α ist ein proinflammatorisches Zytokin, das überwiegend aus mononukleären Zellen freigesetzt wird, die Synthese von TNF und IL-6 stimuliert und an B-lymphozytärer Proliferation, Reifung und Ig-Synthese synergistisch mitwirkt. Ebenso partizipiert es an der NK-Zellaktivierung (*vgl. Abschnitt 1.5.1.1*).

Die für IL-1 α gemessenen Werte lagen in allen Gruppen dicht beieinander. Für statistische Vergleiche wurden die einzelnen Subgruppen zu Hauptgruppen zusammengefasst (*vgl. Abschnitt 3.2ff*). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Perikarderguss und autologem Serum ließ sich in keiner der Gruppen zeigen. In der Gruppe der Patienten mit maligner Grunderkrankung und in der Gruppe mit autoreaktiver/entzündlicher Ergussätiologie zeigt sich allerdings ein Trend zu höheren IL-1 α Werten im Perikarderguss im Vergleich zum autologen Serum. Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Ferner fällt aber auf, daß die IL-1 α Konzentrationen in allen Gruppen sowohl im Perikarderguss als auch im Serum, außer im Serum der Patienten mit autoreaktiver/entzündlicher Ergussgenese, statistisch signifikant erhöht waren gegenüber der Kontrollgruppe.

IL-1 wurde schon in vielen entzündlichen Exsudaten unterschiedlichster Genese nachgewiesen, wie z.B. in Pleuraexsudaten bei Bronchialkarzinom, bakterieller Pneumonie und Tuberkulose (*Naito et al 1997*) oder in der Synovialflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis (*Warnatz et al 1990*). Im Zusammenhang mit entzündlichen Herzmuskelerkrankungen konnten *Matsumori et al 1994* eine Erhöhung von IL-1 α im Serum von Patienten mit akuter Myokarditis nachweisen, wobei dort durchschnittlich Werte von 25 pg/ml im Serum gemessen wurden. In einer anderen Studie von *Nakamura et al 1996*

konnten signifikant erhöhte IL-1 α Spiegel im Myokardgewebe von Mäusen mit chronisch aktiver (autoreaktiver) Myokarditis im Vergleich zu Mäusen ohne Myokarditis gezeigt werden.

Die in dieser Arbeit gemessenen IL-1 α Spiegel entsprechen inhaltlich den Ergebnissen vieler anderer Studien, die ebenfalls erhöhte IL-1 α Spiegel im Zusammenhang mit verschiedenen pathologischen Zuständen beschrieben haben, auch wenn die hier nachgewiesenen Konzentrationen zum Teil erheblich von den in anderen Arbeiten angegeben differieren.

Die in der Kontrollgruppe gemessenen Werte bewegen sich in der gleichen Größenordnung, wie auch der Hersteller des ELISAs sie für gesunde Individuen angibt.

4.3.2. Interleukin-2

Interleukin 2 ist ein pleiotropes Zytokin, welches von T-Zellen produziert wird und als auto- und parakriner Wachstumsfaktor die klonale Expansion antigenspezifischer T-Zellen sowie die Proliferation und Differenzierung aktivierter B-Lymphozyten stimuliert. Weiterhin induziert es das Wachstum von NK-Zellen und verstärkt deren Produktion von Zytokinen (*vgl. Abschnitt 1.5.1.2*).

In allen drei Gruppen (maligne, infektiös und autoreaktiv) fanden sich keine über die Norm erhöhten IL-2 Spiegel, statistisch signifikante Unterschiede innerhalb sowie zwischen den einzelnen Gruppen ließen sich nicht nachweisen. Auch innerhalb der Subgruppen gab es keine wesentlichen Unterschiede. Alle gemessenen Werte lagen innerhalb des Referenzbereiches von 77 pg/ml.

Erhöhte IL-2 Spiegel bzw. eine erhöhte IL-2 Expression im Gewebe konnten im Rahmen vieler pathologischer Zustände beschrieben werden, darunter maligne, infektiöse, entzündliche und autoreaktive Erkrankungen. Beispielsweise konnten *Okura et al 1997* eine vermehrte IL-2 Expression im Myokard von Ratten mit experimenteller autoimmuner Myokarditis (EAM) nachweisen, und zwar im initialen und maximal ausgeprägten Stadium der myokardialen Entzündungsreaktion.

Ungewöhnlich an den IL-2 Messungen waren die z.T. recht hohen IL-2 Spiegel in der Kontrollgruppe. Bei gesunden Individuen sollte IL-2 im Serum nicht oder zumindest nur in geringeren Konzentrationen von unter 10 pg/ml nachweisbar sein. Die Ursache für die hohen IL-2 Konzentrationen konnte jedoch nicht ermittelt werden, da die Kontrollseren von der Blutbank der Marburger Universitätsklinik anonymisiert zur Verfü-

gung gestellt wurden und Daten über den klinischen Zustand der Spender nicht zur Verfügung standen. Es muss daher bei der Kontrollgruppe die Überlegung mit in Betracht gezogen werden, daß sich in der Kontrollgruppe auch Seren von Patienten mit nicht diagnostizierten Erkrankungen finden, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen können.

Bei IL-2 konnte kein statistisch bedeutsamer Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen beobachtet werden.

4.3.3. Interleukin-6

Interleukin-6 ist ein pleiotropes Zytokin, welches die Differenzierung und Sekretion von Antikörpern bei B-Zellen stimuliert, ferner auf T-Zellen als Co-Stimulator wirkt, welcher die Produktion von IL-2 steigert. Weiterhin stimuliert IL-6 die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber und hat Kolonie-stimulierende Wirkung auf die Stammzellen des hämatopoetischen Systems (*vgl. Abschnitt 1.5.1.3*).

Bei den IL-6 Bestimmungen fielen bemerkenswerte Unterschiede zwischen den in Perikardergüssen und Seren gemessenen Konzentrationen auf: In allen Subgruppen waren die im Perikarderguss gemessenen IL-6 Konzentrationen gegenüber den autologen Serumwerten im Median deutlich erhöht. In der Gruppe der Patienten mit malignem Perikarderguss und in der Gruppe der Patienten mit autoreaktivem Perikarderguss ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen den IL-6 Konzentrationen im Perikarderguss und den autologen Serumwerten.

Ein Vergleich der Perikardergüsse bzw. Seren zwischen den einzelnen Gruppen erbrachte keine statistisch signifikanten Unterschiede. Erhöhte IL-6 Spiegel sind im Zusammenhang mit malignen, infektiösen, autoimmunen und vielen anderen Erkrankungen berichtet worden, z.B. multiplen Myelomen, als Marker bei septischen Geschehen, in der Synovialflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis und im Serum bei systemischem Lupus erythematoses (*Hawley 1994, Hirano 1992, Bone 1996, Damas et al 1992, Robak et al 1997*).

In perikardialer Ergussflüssigkeit konnten erhöhte IL-6 Konzentrationen im Rahmen einer adenoviralen Perikarditis (*Mistchenko et al 1995*) und im Rahmen einer rheumatoiden Perikarditis demonstriert werden (*Shikama et al 2000*), wobei ähnlich wie in der hier vorliegenden Arbeit deutliche Unterschiede zwischen den Konzentrationen für IL-6 in Perikarderguss und Serum gemessen wurden.

4.3.4. Interleukin-8

Interleukin-8 ist ein potenter chemotaktischer und aktivierender Faktor für neutrophile Granulozyten. Viele verschiedene Zelltypen wie z.B. Monozyten, T-Zellen, Neutrophile und endotheliale Zellen bilden IL-8 als Reaktion verschiedener inflammatorischer Stimuli. Interleukin-8 besitzt ein großes Spektrum proinflammatorischer Wirkungen (vgl. *Abschnitt 1.5.1.4*).

In allen Subgruppen waren die im Perikarderguss gemessenen IL-8 Konzentrationen gegenüber den autologen Serumwerten im Median deutlich erhöht. In den Gruppen maligne und autoreaktiv/entzündlich waren die Konzentrationen für IL-8 in den Perikardergüssen statistisch signifikant erhöht gegenüber den autologen Serumwerten und gegenüber den in der Kontrollgruppe gemessenen IL-8 Konzentrationen.

Auch bei IL-8 konnte im Rahmen verschiedenster pathologischer Zustände eine vermehrte Expression nachgewiesen werden. Im Zusammenhang mit myokardialen Entzündungsreaktionen konnten *Seino et al 1995* eine vermehrte Synthese eines IL-8-Analogons (CINC) an isolierten Rattenkardiozyten nach Stimulation mit IL-1 α , TNF- α und Lipopolysaccharid (LPS) nachweisen. Erhöhte Konzentrationen von IL-8 (und IL-6) wurden auch im koronarvenösen Blut nach myokardialer Ischämie nachgewiesen (*Neumann et al 1995*).

Die in der Kontrollgruppe gemessenen Werte stimmen mit denen vom Hersteller des ELISAs angegebenen zu erwartenden Werten für gesunde Individuen überein.

Die hohen Werte von IL-8 im Perikarderguss im Vergleich zu den im Median niedrigen Serumwerten sprechen wie bei IL-6 für eine lokale Produktion von IL-8 am Ort des entzündlichen Geschehens.

4.3.5. Interleukin-10

Interleukin 10 (IL-10) ist ein pleiotropes Zytokin, welches sowohl immunsuppressive als auch immunstimulatorische Effekte auf viele verschiedene Zellen ausüben kann. IL-10 wird von T_H-Zellen, einigen aktivierten B-Zelllinien und aktivierten Monozyten gebildet (vgl. *Abschnitt 1.5.1.5*).

Bei den Messungen für IL-10 ergaben sich in der Gruppe der Patienten mit malignem Perikarderguss und in der Gruppe der Patienten mit autoreaktivem Perikarderguss statistisch signifikante Unterschiede zwischen den IL-10 Konzentrationen im Perikarderguss und den autologen Serumwerten. Der Unterschied zwischen Perikarderguss- und Se-

rumwerten beruhte bei den Patienten mit maligner Grunderkrankung allerdings auf den deutlich erhöhten IL-10 Werten in den Perikardergüssen der Subgruppe der Patienten mit zytologisch negativen Ergüssen.

In der Gruppe der Patienten mit infektiöser Ergussgenese konnte dieser Unterschied nicht beobachtet werden. In allen Gruppen waren sowohl die IL-10 Konzentrationen im Perikarderguss als auch im Serum mit Ausnahme der Serumwerte der Patienten der Gruppe 1 (maligner Perikarderguss) gegenüber der Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöht.

IL-10 konnte in entzündlichen Exsudaten unterschiedlichster Genese nachgewiesen werden, darunter u.a. in Pleuraergüssen maligner Genese oder bei Tuberkulose (*Chen et al 1996 und 2001*), wobei in der Exsudatflüssigkeit statistisch signifikant erhöhte IL-10 Spiegel im Vergleich zum Serum gefunden wurden. Über die Rolle von IL-10 bei viraler Myokarditis ist bislang nicht viel bekannt. Einige Studien, wie zum Beispiel die von *Nishio et al 1999*, legen jedoch nahe, daß die Gabe von rekombinantem IL-10 in Zukunft möglicherweise eine therapeutische Option bei viraler Myokarditis darstellen könnte.

Die in der Kontrollgruppe gemessenen Werte für IL-10 stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten überein.

4.3.6. TNF- α

Der Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF- α) wird unter anderem von aktivierten mononukleären Phagozyten, Neutrophilen, aktivierten T- und B-Zellen, NK-Zellen und endothelialen Zellen gebildet (*vgl. Abschnitt 1.5.1.6*).

In allen Gruppen lagen die Konzentrationen für TNF- α im Perikarderguss statistisch signifikant über den Werten, die in der Kontrollgruppe gemessen wurden, wobei zusätzlich die Werte in der Gruppe der Patienten mit malignem Erguss (auch in der Subgruppe der Patienten mit negativer Ergusszytologie) als auch in der Subgruppe mit autoreaktiv-lymphozytärem Erguss gegenüber den autologen Serumwerten statistisch signifikant erhöht waren. In der Subgruppe mit humoralem Perikarderguss war TNF- α sowohl im Serum als auch im Perikarderguss nicht nachweisbar. In der Gruppe der Patienten mit infektiöser Ergussgenese ließ sich im Gegensatz zu den anderen beiden Gruppen ein statistisch bedeutsamer Unterschied zwischen Serumkonzentration und Kontrollgruppe

nachweisen, jedoch ist hier die Aussagekraft durch die geringe Fallzahl (n=7) deutlich eingeschränkt und das Ergebnis daher mit Zurückhaltung zu interpretieren.

Ein Vergleich der Werte für TNF- α im Perikarderguss zeigte die höchsten Konzentrationen in den malignen Ergüssen, wobei dieser tendenzielle Unterschied statistisch nicht signifikant war.

Eine pathogenetische Beteiligung für TNF- α konnte in Zusammenhang mit malignen, septischen, entzündlichen und autoimmunen Geschehen gezeigt werden (*Beutler 1995*). Tierexperimentelle Untersuchungen deuten darauf hin, daß dem TNF- α /TNF-Rezeptorsystem eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese von Myokarditis und Kardiomyopathie (*Neumann et al 1993*) und der Entwicklung kardialer Autoreaktivität zukommt, wie am Modell der murinen autoimmunen Myokarditis gezeigt werden konnte (*Smith et al 1992, Lane et al 1992*). Jedoch ist die vermehrte TNF- α Expression im Rahmen myokardialer Abwehrprozesse nicht ausschließlich negativ zu bewerten, wie eine tierexperimentelle Untersuchung von *Wada et al 2001* zeigen konnte: Nach Auslösen einer viralen Myokarditis durch Infektion mit dem Enzephalomyokarditis Virus (EMCV) zeigten Mäuse, die in der Lage waren TNF- α zu exprimieren, eine wesentlich größere Überlebensrate als Mäuse, die dazu nicht in der Lage waren.

Im Rahmen myokardialer Entzündungsreaktionen konnten *Matsumori et al 1994* erhöhte TNF- α Spiegel im Serum von Patienten mit akuter Myokarditis und dilatativer Kardiomyopathie nachweisen.

Die Ergebnisse der TNF- α -Bestimmungen in den Perikardergüssen in der vorliegenden Arbeit bestätigen die Beteiligung dieses Zytokins auch bei perikardialen Entzündungen unterschiedlicher Genese.

4.3.7. IFN- γ

Interferon Gamma (IFN- γ) wird von aktivierten T_H-Zellen und NK-Zellen nach Stimulation durch Antigene und Zytokine wie IL-2 und IL-12 produziert und zeichnet sich durch seine antiviralen und antiproliferativen Eigenschaften aus. IFN- γ ist ein starker Aktivator von mononukleären Phagozyten und stellt einen entscheidenden Mechanismus der Makrophagenaktivierung durch T-Zellen dar, es erhöht die Expression von MHC-Molekülen der Klasse I und II auf vielen verschiedenen Zelltypen (*vgl. Abschnitt 1.5.1.7*).

Bei Betrachtung der Subgruppen fielen sehr niedrige IFN- γ -Werte im Perikarderguss bei den Patienten mit viraler Ergussgenese und Antikörper-vermitteltem Perikarderguss auf.

Es fanden sich in allen drei Gruppen (maligne, infektiös und autoreaktiv) keine statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb oder zwischen den einzelnen Gruppen und auch keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Für die teilweise recht hohen Konzentrationen von IFN- γ in der Kontrollgruppe, welches im Serum Gesunder nicht nachweisbar sein sollte, gelten die gleichen Überlegungen, die bereits bei Diskussion der Ergebnisse für IL-2 erwähnt wurden (anonymisierte Kontrollgruppe, fehlende klinische Daten, siehe *Abschnitt 4.3.2*).

IFN- γ ist ein Mediator, der mit vielen anderen Zytokinen synergistisch wirkt. Vermehrte Expression von IFN- γ konnte wie bei den anderen o.g. Zytokinen im Rahmen verschiedenster Erkrankungen nachgewiesen werden, darunter Krankheiten infektiöser, maligner und autoreaktiver Genese. Über die Bedeutung von IFN- γ bei myokardialen Entzündungsreaktionen ist bisher wenig bekannt. In einer tierexperimentellen Untersuchung konnten *Eriksson et al 2001* an Mäusen, die nicht in der Lage waren, IFN- γ Rezeptoren auszubilden (IFN- γ -R(-/-)), zeigen, daß diese wesentlich schwerer an einer induzierten autoimmunen Myokarditis erkrankten als Wildtyp-Mäuse. In einer anderen Arbeit von *Shioi et al 1996* wurde in myokardialem Gewebe von Mäusen, bei denen eine postmyokarditische dilatative Kardiomyopathie induziert wurde, eine persistierende mRNA Expression von IFN- γ , IL-1 β , TNF- α und IL-2 beobachtet.

Ein Bericht von *Nigro et al 2000* deutet auf einen weiteren Zusammenhang hin: Bei drei Kindern konnten im Rahmen einer Parvo-B19 Virusinfektion, die eine lymphozytäre Myokarditis verursachte, im Serum erhöhte Spiegel für IFN- γ , TNF- α , IL-6 und IL-8 nachgewiesen werden, die sich bei Kindern mit bewiesener Parvo-B19 Virusinfektion *ohne* Myokarditis nicht zeigen ließen.

4.3.8. IL-2 sR α

Für den Interleukin-2 Rezeptor konnte gezeigt werden, daß die Konzentration der löslichen Form der α -Kette des IL-2 Rezeptors (IL-2 sR α) mit dem Grad der B- und T-Zell-Aktivierung und dem allgemeinen Zustand der Aktivität des Immunsystems korreliert (*vgl. Abschnitt 1.5.1.2*).

Beim Vergleich der Mediane der IL-2 sR α Konzentrationen fällt auf, daß sich sowohl in der Subgruppe der viralen als auch in der Subgruppe der Antikörper-vermittelten Perikardergüsse tendenziell niedrigere Werte als in den restlichen Subgruppen beobachten lassen.

Sowohl in der Gruppe der Patienten mit malignem Perikarderguss als auch in der Gruppe der Patienten mit autoreaktivem Perikarderguss wurden in Perikardergüssen und Seren statistisch signifikant erhöhte Konzentrationen für IL-2 sR α im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen, die sich in der Gruppe der Patienten mit infektiöser Genese nicht zeigen ließen. Zwischen den einzelnen Gruppen ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen, ebenso nicht zwischen Perikarderguss und autologem Patientenserum.

Erhöhte IL-2 sR α Konzentrationen finden sich als Ausdruck des Grades der T-Zell-Aktivierung und dem allgemeinen Zustand der Aktivität des Immunsystems wieder. Dementsprechend finden sich Nachweise von IL-2 sR im Rahmen vieler verschiedener Erkrankungen, darunter Berichte über Nachweis in tuberkulösen Pleuraergüssen (*Chan et al 1995*), in malignen Pleuraergüssen (*Porcel et al 2000*) oder in Zusammenhang mit autoimmunen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis oder systemischem Lupus erythematoses (SLE). Eine erhöhte Expression von IL-2 sR im myokardialen Gewebe konnten *Hufnagel und Maisch 1991* bei Patienten mit akuter Transplantatabstoßung nach Herztransplantation und bei einigen Patienten mit Myokarditis demonstrieren.

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen eine im Mittel deutlich erhöhte Konzentration von IL-2 sR α in allen Gruppen sowohl im Perikarderguss als auch im Serum, auch wenn die Konzentrationen in der Gruppe der infektiös bedingten Perikardergüsse nicht statistisch signifikant erhöht waren. Zu bedenken ist auch an dieser Stelle die geringe Größe der Gruppe der Patienten mit infektiöser Ergussätiologie (n=7).

4.4. Schlussfolgerung

4.4.1. Kategorisierungsversuch der Zytokinmuster bei Perikardergüssen

4.4.1.1. Pro- versus antiinflammatorische Zytokinantwort

Zytokine sind niedermolekulare Proteine, meist Glykoproteine, die als lösliche Mediatoren vor allem von immunkompetenten Zellen gebildet werden und die Interaktionen mit ihnen regulieren. Auch andere Zellen (z.B. Endothelzellen) aber auch, wie hier angedeutet und vorne diskutiert, ortsständige Zellen im Herzgewebe (Myozyten, Fibroblasten, Endothelien und Epikard- bzw. Perikardzellen, Mesothelien) dürften dazu in der Lage sein. Nahezu alle Zellsysteme besitzen Rezeptoren für Zytokine und werden in ihrer Funktion von diesen beeinflusst. Somit stellen Zytokine die Basis für den systemischen oder regionalen (hier perikardialen) Charakter immunologischer Reaktionen dar. Die physiologische (z. B. im Rahmen eines Infektes) und die pathophysiologische / pathologische Immunstimulation (z.B. im Rahmen einer autoimmunen Reaktion oder einer Tumorerkrankung) führen zur Dysbalance der Systeme. Zytokine weisen, wie in *Abb. 1.6.2* dargestellt, oft pleiotrope Wirkungen auf verschiedene Organsysteme auf. Dabei kann ein Zytokin je nach Ausgangszustand und Aktivierung der produzierenden Zellen auch verschiedene, manchmal sogar entgegengesetzte Wirkungen entfalten. Die biologische Wirkung von Zytokinen hängt auch von zytokinantagonistischen Proteinen, meist löslichen Zytokinrezeptoren ab, wie dies hier am Beispiel von IL-2 als Zytokin und löslichem IL-2 Rezeptor (IL-2 sR α) untersucht wurde.

Je nach Funktion -trotz der teilweise ausgeprägten pleiotropen biologischen Effekte- werden Zytokine in folgende funktionelle Gruppen eingeteilt:

Interferone. Hiervon wurde in dieser Arbeit IFN- γ untersucht, das aus T- und NK-Zellen stammt. Nicht bestimmt wurden IFN- α (meist sezerniert von virusinfizierten Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen), sowie Interferon- β (meist aus virusinfizierten Fibroblasten).

Proinflammatorische Zytokine. Hierzu gehören IL-1, IL-2, TNF, IL-6, IL-8, die alle in dieser Arbeit untersucht wurden, sowie IL-4 (?), das nicht bestimmt wurde.

Antiinflammatorische Zytokine mit suppressiver Wirkung. Prototypen sind hier IL-10 und TGF- β (wurde in dieser Arbeit nicht bestimmt).

Hämatopoetische Wachstumsfaktoren. Zu ihnen gehören die hier untersuchten IL-1 und IL-6, aber auch das IL-3. Diese Zytokine aktivieren alle ruhende Stammzellen. Da-

zu gehören auch die hier nicht untersuchten Faktoren GM-CSF (Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor), G-CSF (Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor), EPO (Erythropoetin) sowie Thrombopoetin u.a.

Zytokin-Antagonisten. Für alle Zytokine gibt es lösliche Rezeptoren, die mit hoher Affinität freie Zytokine binden und neutralisieren. Ihre Konzentrationen liegen meist 100- bis 1000-fach höher als die ihrer entsprechenden Zytokine. Hier wurde als Beispiel der lösliche Rezeptor für IL-2 (IL-2 sR α) ausgewählt, dessen Konzentration mit dem Grad der B- und T-Zell-Aktivierung und dem allgemeinen Zustand der Aktivität des Immunsystems korreliert.

Chemokine. Diese sezernierten Polypeptide binden an spezifische Oberflächenrezeptoren, die ihrerseits Signale über kleine G-Proteine vermitteln. Sie triggern u.a. die intravaskuläre Adhäsion, dirigieren die Migration von Leukozyten und werden entweder als entzündlich oder lymphoid eingestuft. Ein hier untersuchtes Beispiel ist das IL-8. Es induziert u.a. die Produktion von IFN- γ . Über 50 Chemokine sind heute bekannt, u.a. das Growth Regulated Oncogene (Gro), das Monocyte Chemoattractant Protein (MCP-1,-2,-3,-4, alle an Epithelzellen und Effektorzellen exprimiert), das Macrophage Inflammatory Protein (MIP-1 alpha, MIP-1 beta, MIP-3 alpha, MIP-3 beta), die an lymphoiden Organen exprimiert werden, sowie Fraktalkine, die auch aus dem Herzen stammen können und auf Lymphozyten und Monozyten wirken.

Maligne Ergüsse haben mit Ausnahme von IFN- γ sehr hohe Spiegel aller proinflammatorischen Zytokine im Vergleich zu den meist gleichfalls erhöhten autologen Serumwerten. Dies gilt für eine nachgewiesene Tumordinfiltration ebenso wie für zytologisch negative Ergüsse bei maligner Grunderkrankung aber z.B. erfolgter Nachbestrahlung. Aber auch das antiinflammatorische IL-10 ist vergleichsweise im Perikard über den gleichfalls gesteigerten Serumspiegel erhöht, sodass Proinflammation und suppressive Gegenregulation vorliegen. Für alle hier getesteten Zytokine mit Ausnahme von IFN- γ und IL-2 ist außerdem eine lokale Produktion oder Anreicherung im Herzbeutel zu postulieren.

Dagegen zeigen **bakterielle Ergüsse** zwar hohe pro- und antiinflammatorische Zytokinspiegel, diese aber sowohl im Perikarderguss als auch im autologen Serum, sodass eine lokale Produktion in Herzbeutel unwahrscheinlich ist und die Zytokinantwort von der systemischen Reaktion dominiert wird.

Virale Ergüsse zeigen mit Ausnahme der etwas stärkeren Anreicherung von IL-6 und IL-8 im Herzbeutel äquivalente Spiegel zum autologen Serum, wobei die Spiegel meist

über den Kontrollseren lagen. Die verstärkte Konzentration von suppressivem IL-10 im Erguss spricht für eine lokale Begrenzung der proinflammatorischen Reaktion.

Autoreaktive lymphozytenreiche Ergüsse zeigen ein tendenziell erhöhtes TNF- α , erhöhte IL-2 sR α Spiegel (aber nicht IL-2) und stark erhöhtes IL-6 und IL-8 im Erguss als Hinweis auf eine lokale Produktion im Herzbeutel. Die suppressive antiinflammatorische Reaktion mit IL-10 ist gleichfalls lokal stärker als systemisch aktiviert.

Autoreaktive humorale Ergüsse (ASA und AMLA sind im Perikarderguss positiv) zeigen mit einer vergleichsweise zum Serum stark erhöhten IL-6 und leicht erhöhten IL-8 Konzentrationen für diese Zytokine eine partielle lokale Produktion an, wohingegen das suppressive Prinzip und damit wohl auch die für die IL-10 Produktion verantwortlichen Zellen (Th0, Th2-, Monozyten, dendritische Zellen und Makrophagen) im Perikard fehlen dürften, da die Ergusskonzentration von IL-10 in etwa der des Serums entspricht bzw. sogar tendenziell niedriger erscheint. Die nachfolgende *Tabelle 4.4.1.1-1* gibt die Zytokinmuster bei den untersuchten Patientengruppen, getrennt in pro- und antiinflammatorische Zytokine im Vergleich zwischen Perikarderguss und autologem Serum sowie zum Kontrollserum wieder.

	maligne	infektiös		autoreaktiv / entzündlich		Folgerung
		<i>viral</i>	<i>bakteriell</i>	<i>lymphozytär</i>	<i>humoral</i>	
proinflammatorische Zytokine						
IFN- γ	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
TNF- α	PE*>Se	PE*=Se*	PE* \geq Se*	PE*>Se	PE=Se	partiell lokale Produktion
IL-1 α	PE* \geq Se*	PE*=Se *	PE* \leq Se*	PE*=Se*	PE \geq Se	lokale Produktion
IL-2	PE=Ser	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
IL-2sR α	PE* \geq Se*	PE* \geq Se	PE*=Se*	PE* \geq Se*	PE* \geq Se*	partiell lokale Produktion
IL-4	nicht bestimmt					
IL-6	PE*>>Se*	PE*>Se	PE* \geq Se*	PE*>>Se*	PE*>Se*	lokale Produktion
IL-8	PE*>>Se*	PE*>Se	PE* \geq Se*	PE*>>Se*	PE*>Se	lokale Produktion
antiinflammatorische Zytokine						
IL-10	PE#>Se#	PE*>>Se#	PE*<Se*	PE*>Se#	PE# \leq Se#	partiell lokale Produktion
TGF- β	nicht bestimmt					

Tabelle 4.4.1.1-1: PE=Perikarderguss, Se=Serum

* stark erhöht im Vergleich zur Serumkontrolle gesunder Probanden (n=40)

gering erhöht im Vergleich zur Serumkontrolle gesunder Probanden

4.4.1.2. Th0-, Th1- oder Th2-Antwort

Wenn man dem klassischen Dogma der Zuordnung der dominierenden Zytokinantworten für Subpopulationen der T-Helferzellen folgt, lassen sich die Zytokinmuster der sogenannten Th1- und der Th2-Antwort und ihren Vorläufern (Th-V und Th0) zuordnen. Es galt deshalb zu prüfen, ob sich spezifische Zytokinmuster den einzelnen Ergussursachen zuordnen lassen. Dazu ist zunächst das typische Muster der Th0, der Th1- und Th2-Antwort zu definieren (*s. Abb.1.6.2*).

Th-V-Antwort:

Th-V-Zellen sind Vorläuferzellen, die IL-2 sezernieren. Für keine der Ergussformen dürfte eine lokale oder systemische Th-V-Antwort vorliegen. Dieses frühe Stadium ist bei normalen IL-2 Konzentrationen im Serum und Erguss überschritten.

Th0-Antwort:

Th0-Zellen sind Vorläuferzellen mit erhöhten Spiegeln für IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ und TNF, die über ihre differenzierte Wirkung die Ausprägung von Th1- bzw. Th2 Immunantworten erzeugen.

Erhöhte IL-10, TNF- α und tendenziell auch erhöhte IFN- γ Spiegel finden sich im Perikarderguss stärker ausgeprägt als im autologen Serum und passen bei den untersuchten Patienten zu einer überwiegend regionalen Th0-Antwort bei malignen, bakteriellen, viralen und autoreaktiv-lymphozytären Ergüssen. Die lokal erhöhte Produktion für TNF und IL-10 findet sich nicht bei den Patienten mit humoral autoreaktiven Perikardergüssen, da hier Effektorzellen „qua definitionem“ fehlen dürften. Bei den bakteriellen Ergüssen ist die Ausgangslage im Serum anders, da hier bereits im Serum sehr hohe Werte auffallen, die eine systemische Reaktion belegen. Diese findet sich in dieser Höhe dann auch im Perikard wieder.

Th1-Antwort:

Die Th1-Antwort entspricht der klassischen autoimmunen Reaktion (auch „delayed type hypersensitivity“). Die Proliferation von Th1-Zellen ist unabhängig von IL-1.

Die Th1-Zellen sezernieren **proinflammatorische Zytokine**, prototypische Zytokine sind IL-2, IFN- γ , TNF- β . Beteiligte andere Zytokine sind: IL-6, GM-CSF und IL-3.

Erhöht sind u.a. neben den Th1-Lymphozyten auch Makrophagen sowie die MHC I und II Expression. Charakteristisch ist die Immunglobulin-Klassen-Konversion von IgM nach IgG.

Bei den hier untersuchten Patienten findet sich eine lokale intraperikardiale Th1-Antwort allenfalls bei malignen und viralen Ergüssen.

Th2-Antwort:

Dies ist die klassische „allergische Reaktion“ mit Aktivierung der B-Lymphozyten und Plasmazellen. Th2-Zellen benötigen IL-1 zur Proliferation.

Th2-Zellen sezernieren **antiinflammatorische Zytokine**. Prototypische Zytokine sind IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 und TGF- β . Erhöht sind u.a. neben den Th2-Lymphozyten ebenso die B-Lymphozyten sowie Eosinophile. Bemerkenswert ist die Immunglobulin-Klassen-Konversion von IgG nach IgG1 und IgE.

Bei den hier untersuchten Patienten findet sich eine lokale intraperikardiale Th2-Antwort in allen Perikardergüssen, eine systemische Th2-Antwort liegt möglicherweise zusätzlich bei allen Patienten mit Ausnahme der autoreaktiven humoralen Perikardergüsse vor.

Eine vergleichende Übersicht über die gemessenen Zytokinwerte in Perikardergüssen und Seren unter Berücksichtigung von Th0-, Th1- oder Th2-Konzeptes kann nachfolgender *Tabelle 4.4.1.2-1* entnommen werden.

	maligne	infektiös		autoreaktiv/ entzündlich		Folgerung
		viral	bakteriell	lymphozytär	humoral	
Th-V (IL-2)						
IL-2	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
Th0						
IFN- γ	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
IL-2	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
IL-4	nicht bestimmt					
IL-5	nicht bestimmt					
IL-10	PE#>Se#	PE*>>Se#	PE*<Se*	PE*>Se#	PE#≤Se#	lokale Produktion
TNF- α	PE*>Se	PE*=Se*	PE* \geq Se*	PE*>Se	PE=Se	partiell lokale Produktion
Th1 (proinflammatorische Zytokine)						
IFN- γ	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
TNF- α	PE*>Se	PE*=Se*	PE* \geq Se*	PE*>Se	PE=Se	partiell lokale Produktion
IL-2	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	PE=Se	gleich
IL-2sR α	PE* \geq Se*	PE* \geq Se	PE*=Se*	PE* \geq Se*	PE* \geq Se*	partiell lokale Produktion
Th2 (antiinflammatorische Zytokine)						
IL-4	nicht bestimmt					
IL-5	nicht bestimmt					
IL-6	PE*>>Se*	PE*>Se	PE* \geq Se*	PE*>>Se*	PE*>Se*	lokale Produktion
IL-10	PE#>Se#	PE*>>Se#	PE*<Se*	PE*>Se#	PE#≤Se#	lokale Produktion
TGF- β	nicht bestimmt					
pleiotrope Zytokine						
IL-1 α	PE* \geq Se*	PE*=Se *	PE*≤Se*	PE*=Se*	PE \geq Se	lokale Produktion
IL-8	PE*>>Se*	PE*>Se	PE* \geq Se*	PE*>>Se*	PE*>Se	lokale Produktion

Tabelle 4.4.1.2-1

* stark erhöht im Vergleich zur Serumkontrolle gesunder Probanden (n=40)

gering erhöht im Vergleich zur Serumkontrolle gesunder Probanden

PE=Perikarderguss, Se=Serum

Anmerkung:

Th-V-Antwort: erhöht ist IL-2

Th0-Antwort: erhöht sind IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ , TNF

Th1-Antwort: erhöht sind die proinflammatorischen Zytokine IL-2, IFN- γ , TNF- β und Makrophagen

Th2-Antwort: erhöht sind die antiinflammatorischen (suppressive) Zytokine IL-10, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 und B-Zellen, Eosinophile und Mastzellen

Einschränkend sei an dieser Stelle bemerkt, daß die Komplexität der biologischen Wirkungen der in dieser Arbeit untersuchten Zytokine zur Zurückhaltung bei der Interpretation der Daten zwingt.

Studien dieser Art, bei denen Zytokine in Körperflüssigkeiten bestimmt werden, haben grundsätzlich den Nachteil der methodenbedingten Nachweisgrenze von zur Zeit um oder unter 1 pg/ml, wodurch der subtileren Analyse der Zytokin-Regulationsmuster gewisse Grenzen gesetzt sind, möglicherweise ein Grund für den fehlenden Nachweis eines statistisch signifikanten Unterschiedes zwischen den einzelnen Patientengruppen.

Ein weiterer Aspekt, der möglicherweise eine Rolle spielt, liegt in der Tatsache begründet, daß die relativ kleine Anzahl an Patienten nicht den erforderlichen Umfang besaß, um existierende Unterschiede zu entdecken.

Obwohl erhöhte Zytokinspiegel im Rahmen vieler verschiedener entzündlicher Zustände nachgewiesen werden konnten, ist ein Rückschluss auf die zugrundeliegende Ursache der Entzündung anhand von Zytokinanalysen meistens nicht möglich, da kein Zytokin für eine bestimmte Erkrankung spezifisch ist (*Deitch 1993*). Häufig sind die Unterschiede, die bestimmte entzündliche Zustände charakterisieren, eher quantitativer als qualitativer Natur. Rückschlüsse auf die an der Immunreaktion beteiligten Zelltypen sind aufgrund der extremen Pleiotropie und der Redundanz der Zytokinwirkungen sowie der Tatsache, dass Zytokine von sehr vielen verschiedenen Zelltypen produziert werden können, spekulativ.

Weiterführende Untersuchungen müssen zeigen, welche pathogenetische Relevanz die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesenen Zytokine (vor allem IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α) bei perikardialen Entzündungsreaktionen besitzen, ob diese gewissermaßen wesentliche Mechanismen einer spezifischen Entzündungsreaktion darstellen oder aber Ausdruck bzw. ein Epiphänomen eines noch subtileren Regulationsmusters widerspiegeln.

Ferner wäre es wichtig, das Verständnis perikardialer Entzündungsreaktionen durch Tierversuche und In-vitro-Experimente zu vertiefen, um die Beteiligung und Wirkung von bestimmten Zytokinen isolierter betrachten zu können, als dies bei Untersuchungen am Gesamtorganismus möglich ist.

In Verbindung mit einer Datenbank für perikardiale Ergüsse (*Dickson et al 1999*) eröffnet die Analyse perikardialer Ergüsse auf Zytokine in Zukunft möglicherweise neue antiinflammatorische Therapiemöglichkeiten und erweitert das Verständnis (auto)immunologischer Mechanismen.

5. Zusammenfassung

Die Ursachen für Erkrankungen des Perikards mit konsekutiver Perikarditis sind äußerst vielfältig und ebenso vielfältig sind die Ursachen, die zu einem Perikarderguss führen können. Es ist sinnvoll, diese nach ätiologischen Gesichtspunkten zu klassifizieren.

In diese Untersuchung wurden 40 Patienten mit Perikarditis und Perikardergussbildung unterschiedlicher Ätiologie aufgenommen.

Unter Berücksichtigung klinischer Daten und Diagnosen sowie von Befunden spezieller Untersuchungen wie Perikardioskopie, Peri- bzw. Epikardbiopsie, molekularbiologische Untersuchungen wie PCR zum Nachweis von Infektionserregern als auch immunologische und immunhistochemische Untersuchungen an Biopsaten konnten die Patienten retrospektiv in folgende Gruppen eingeteilt werden:

- Patienten mit *malignem Perikarderguss/maligner Grunderkrankung* (n=19 Patienten): Diese Gruppe wurde subdifferenziert in *Gruppe 1a*, welche Patienten mit zytologisch und/oder biotisch validiertem Perikardtumor /metastase umfasst sowie in *Gruppe 1b*, die Patienten mit maligner Grunderkrankung aber negativer Perikardergusszytologie und/oder fehlendem biotischen Tumor-/Metastasennachweis einschließt.
- Patienten mit *infektiösem Perikarderguss* (n=5 Patienten): Der Nachweis einer infektiösen Ergussgenese erfolgte mittels PCR bzw. Kultur, diese Gruppe wurde subdifferenziert in Patienten mit viraler (*Gruppe 2a*) oder bakterieller (*Gruppe 2b*) Perikardergussgenese.
- Patienten mit *autoreaktiver bzw. entzündlicher Genese* der Perikardergussentstehung (n=13 Patienten): Diese Gruppe wurde subdifferenziert in Patienten mit Perikardergüssen vom *autoreaktiv lymphozytären Typ* (*Gruppe 3a*, Lymphozyten stellen den dominierenden Zelltyp in der perikardialen Ergussflüssigkeit dar), sowie in Patienten mit *B-Zell-vermittelten, ASA- und AMLA positiven* Perikardergüssen (*Gruppe 3b*).

Über die Beteiligung von Zytokinen an perikardialen Entzündungsreaktionen liegen bisher nur sehr wenige Studien vor.

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob der Nachweis bestimmter Zytokine bzw. eines bestimmten Zytokinmusters Rückschlüsse auf die Ursache der Perikardergussbildung zulässt und sich somit eventuell neue Therapiemöglichkeiten eröffnen. Zu diesem Zweck wurden in Perikardergüssen und Seren IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ,

IFN- γ und IL-2 sR α mittels ELISA bestimmt und mit den Serum-Zytokinkonzentrationen einer Kontrollgruppe verglichen.

Für die Zytokine IL-6, IL-8 und IL-10 konnte eine statistisch signifikante Konzentrationserhöhung sowohl bei den Patienten mit malignem als auch bei den Patienten mit autoreaktivem/entzündlichem Perikarderguss in den Perikardergüssen im Vergleich zu den autologen Seren nachgewiesen werden ($p < 0,05$), für TNF- α traf dies nur für die Patienten mit malignem Perikarderguss zu.

In keiner der Gruppen waren IL-2 und IFN- γ statistisch signifikant erhöht, weder im Perikarderguss noch im Serum.

IL-1 α war sowohl im Perikarderguss als auch im Serum aller Gruppen statistisch signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$), außer im Serum der Patienten mit autoreaktiver Ergussätiologie. Die Konzentrationen von IL-1 α in den Perikardergüssen maligner und entzündlicher/autoreaktiver Genese war im Median höher als die autologen Serumwerte. Bei den bakteriellen Ergüssen fällt auf, daß IL-1 α insbesondere im Serum im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht ist.

IL-8 gestattet die Differenzierung von bakteriellen und viralen Perikardergüssen bzw. autoreaktiv-humoralen Perikardergüssen. Sowohl im Serum der Patienten mit viralen als auch im Serum der Patienten mit autoreaktiv-humoralen Perikardergüssen war IL-8 nicht nachweisbar, in den autologen Perikardergüssen hingegen war IL-8 erhöht.

IL-2 sR α war sowohl bei den Patienten mit malignem als auch bei den Patienten mit autoreaktivem Perikarderguss in den Perikardergüssen und Seren statistisch signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Ein spezifisches Zytokinmuster, das eine klare Differenzierung bezüglich der Ätiologie der Perikardergussgenese erlaubt, konnte zwar nicht gezeigt werden, allerdings lassen sich unter Berücksichtigung des Konzeptes der Th0-, Th1- und Th2-Immunantwort folgende Beobachtungen machen: Eine überwiegend regionale Th0-Antwort findet sich bei malignen, bakteriellen, viralen und autoreaktiv-lymphozytären Ergüssen. Eine lokale intraperikardiale (proinflammatorische) Th1-Antwort findet sich allenfalls bei malignen und viralen Ergüssen. Eine lokale (antiinflammatorische) Th2-Antwort läßt sich in allen Perikardergüssen beobachten, eine systemische Th2-Antwort liegt möglicherweise zusätzlich bei allen Patienten mit Ausnahme der autoreaktiven humoralen Perikardergüsse vor. Die Ergebnisse der Analysen von IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α deuten eindeutig auf einen lokalen entzündlichen Prozess mit gegenregulatorischen Mechanismen (IL10) hin, dessen besseres Verständnis in Zukunft möglicherweise neue therapeutische Optionen bieten könnte.

6. Literaturverzeichnis

1. Adolf GR
Structure and effects of interferon-gamma.
Oncology 1985; 42 Suppl 1:33-40
2. Akira S, Taga T, Kishimoto T.
Interleukin-6 in biology and medicine. (Review)
Adv. Immunol. 1993; 54:1-78.
3. Anand SS, Saini VK, Wahl PL
Constrictive Pericarditis
Dis Chest 1966; 47:291
4. Baggiolini M, Dewald B, Moser B
Human chemokines: an update
Annu Rev Immunol 1997; 15:675-705
5. Beutler B.
TNF, immunity and inflammatory disease: lessons of the past decade
J Invest Med 1995; 43:227-235
6. Bone RC
Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation
Crit Care Med 1996; 24:163-172
7. Bowles NE, Richardson PJ, Olsen EG, Archard LC
Detection of Coxsackie-B-virus-specific RNA sequences in myocardial biopsy samples from patients with myocarditis and dilated cardiomyopathy
Lancet 1986; 17:1120-3
8. Celermajer DS, Boyer MJ, Bailey BP, Tattersall MH
Pericardiocentesis of symptomatic malignant pericardial effusion: a study of 36 patients
Med J Aust 1991; 154:19-22
9. Chan CH, Lai CK, Leung JC, Ho AS, Lai KN
Elevated interleukin-2 receptor level in patients with active pulmonary tuberculosis and the changes following anti-tuberculosis chemotherapy
Eur-Respir-J. 1995; 8:70-3
10. Chapman NM, Tracy S, Gauntt CJ, Fortmueller U
Molecular detection and identification of enteroviruses using enzymatic amplification and nucleic acid hybridisation
J Clin Microbiol 1990; 28:843-50

11. Chen YM, Yang WK, Whang-Peng J, Kuo BI, Perng RP
Elevation of interleukin-10 levels in malignant pleural effusion
Chest 1996; 110:433-6
12. Chen YM, Yang WK, Whang-Peng J, Tsai CM, Perng RP
An analysis of cytokine status in the serum and effusions of patients with tuberculous and lung cancer
Lung Cancer 2001; 31:25-30
13. Classen M, Diehl V, Kochsiek K
Innere Medizin
Urban & Fischer Verlag, 5. Aufl. 2003, p 1025-26
14. Corey GR, Campbell PT, Van Trigt P, Kenney RT, O'Connor CM, Sheikh KH, Kisslo JA, Wall TC
Etiology of large pericardial effusions.
Am J Med 1993; 95:209-13
15. Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, Lamy M
Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity.
Ann Surg. 1992; 215:356-62
16. DeCamp MM Jr, Mentzer SJ, Swanson SJ, Sugarbaker DJ
Malignant effusive disease of the pleura and pericardium
Chest 1997; 112:291S-5S
17. Deitch EA
Cytokines yes, cytokines no, cytokines maybe?
Crit Care Med 1993; 21:817-9
18. Dickson TJ, Gurudutt V, Nguyen AQ, Kumfer K, Maxted W, Brown J, Mahomed Y, Sharp T, Aufiero TX, Fineberg N, March KL
Establishment of a clinically correlated human pericardial fluid bank: evaluation of intrapericardial diagnostic potential
Clin Cardiol 1999; 22:140-2
19. Dinarello CA
The interleukin-1 family: 10 years of discovery
FASEB J. 1994; 8:1314-25
20. Dinarello CA
Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism.
Blood 1991; 77:1627-52
21. Duvernoy O, Magnusson A
CT-guided pericardiocentesis
Acta Radiol 1996; 37:775-8

22. Eriksson U, Kurrer MO, Bingisser R, Eugster HP, Saremaslani P, Follath F, Marsch S, Widmer U
Lethal autoimmune myocarditis in interferon-gamma receptor-deficient mice: enhanced disease severity by impaired inducible nitric oxide synthase induction
Circulation 2001; 103:18-21
23. Fagan SM, Chan KL
Pericardiocentesis. Blind no more!
Chest 1999; 116:275-6
24. Farrar MA, Schreiber RD
The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor.
Annu Rev Immunol 1993; 11:571-611
25. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O-Garra A
IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells
J Immunol 1991; 146:3444-51
26. Garcia LW, Ducatman BS, Wang HH
The value of multiple fluid specimens in the cytological diagnosis of malignancy
Mod Pathol 1994; 7:665-8.
27. Gibson AT, Segal MB
A study of the composition of pericardial fluid with special reference to the probable mechanism of fluid formation
J Physiol 1978; 277:367-377
28. Goldsmith MA, Greene WC
Interleukin-2 and the interleukin-2 receptor
The Cytokine Handbook (Thomson A ed.); Academic Press, Ltd., London, p 57, 1994.
29. Goodman JL, Jurkovich P, Kramber JM, Johnson RC
Molecular detection of persistent *Borrelia burgdorferi* in the urine of patients with active Lyme disease
Infect Immun 1991; 59:269-78
30. Grunow N, Sickert W, Goertchen R
Frequency of histopathological heart findings in representative autopsy material. An epidemiological contribution to quality assurance
Z Arztl Fortbild Qualitatssich 2000; 94:509-14
31. Hawley RG
Hematopathology of interleukin 6-type cytokines
Stem Cells 1994;12 Suppl 1:155-71

32. Hengstenberg C, Rose ML, Olsen EG, Maisch B
Immune response to the endothelium in myocarditis, dilated cardiomyopathy and rejection after heart transplantation
Eur Heart J. 1991; 12 Suppl D:144-6
33. Hirano T
Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease
Clin Immunol Immunopathol 1992; 62:60-5
34. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A
Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin
Nature 1986; 324:73-6
35. Holt JF
Epicardial Fat Shadows in differential diagnosis
Radiology 1947; 48:472-9
36. Horowitz MS, Schultz CS, Stinson EB, Harrison DC, Popp RL
Sensitivity and specificity of echocardiographic diagnosis of pericardial effusion
Circulation 1974; 50:239-47
37. Hufnagel G, Busse C, Ische B, Maisch B
Detection of adenoviral DNA in endomyocardial biopsies of adult patients with myocarditis and dilated cardiomyopathy
Eur Heart J 1997; 18:515
38. Hufnagel G, Maisch B
Expression of MHC class I and II antigens and the IL-2 receptor in rejection, myocarditis and dilated cardiomyopathy
Eur Heart J 1991; 12 Suppl D:137-40
39. Karjalainen J, Heikkilä J
Incidence of three presentations of acute myocarditis in young men in military service. A 20-year experience.
Eur Heart J 1999; 20:1120-5
40. Kaye J, Janeway CA Jr
Induction of receptors for interleukin 2 requires T cell Ag: Ia receptor crosslinking and interleukin 1
Lymphokine Res 1984; 3:175-82
41. Kelly RA, Smith TW
Cytokines and cardiac contractile function
Circulation 1997; 95:778-81
42. Kishimoto T, Akira S, Taga T
Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines
Science 1992; 258:593-7

43. Kishimoto T.
The biology of interleukin-6.
Blood 1989; 74:1-10
44. Kjell O, Björk P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompsen RC
Interleukin-1 receptor antagonist reduced mortality from endotoxin shock.
Nature 1990; 348:550-552
45. Kondos G, Rich S, Levitsky S
Flexible fiberoptic pericardioscopy for the diagnosis of pericardial disease
J Am Coll Cardiol 1986; 7:432-4
46. Kremens V
Demonstration of the pericardial shadow on the routine chest roentgenogramm:
A new roentgen finding
Radiology 1955; 64:72-80
47. Krikorian JG, Hancock EW.
Pericardiocentesis
Am J Med 1978; 65:808-14
48. Lane JR, Neumann DA, Lafond-Walker A, Herskowitz A, Rose NR
Interleukin 1 or tumor necrosis factor can promote Cocksackie B3-induced myo-
carditis in resistant B10A mice
J Exp Med 1992; 175:1123-9
49. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M
Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failu-
re
N Engl J Med 1990; 323:236-41
50. Lotz M, Jirik F, Kabouridis P, Tsoukas C, Hirano T, Kishimoto T, Carson DA
B cell stimulating factor 2/interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes
and T lymphocytes
J Exp Med 1988; 167:1253-8
51. Maisch B
Pericardial diseases, with a focus on etiology, pathogenesis, pathophysiology,
new diagnostic imaging methods, and treatment
Curr Opin Cardiol 1994; 9:379-88
52. Maisch B, Bauer E, Cirsì M, Kochsiek K
Cytolytic cross-reactive antibodies directed against the cardiac membrane and
viral proteins in coxsackievirus B3 and B4 myocarditis. Characterization and
pathogenetic relevance
Circulation. 1993; 87 Suppl 5:IV49-65

53. Maisch B, Bethge C, Drude L, Hufnagel G, Herzum M, Schönian U
Pericardioscopy and epicardial biopsy - new diagnostic tools in pericardial and perimyocardial disease
Eur Heart J 1994; 15 Suppl C:68-73
54. Maisch B, Drude L
Pericardioscopy - a new diagnostic tool in inflammatory diseases of the pericardium
Eur Heart J 1991; 12 Suppl D:2-6
55. Maisch B, Pankuweit S, Brilla C, Funck RC, Simon BC, Grimm W, Herzum M, Hufnagel G
Intrapericardial treatment of inflammatory and neoplastic pericarditis guided by pericardioscopy and epicardial biopsy--results from a pilot study
Clin Cardiol. 1999; 22 Suppl 1:117-22
56. Maisch B, Portig I, Ristic A, Hufnagel G, Pankuweit S
Definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): on the way to consensus. A status report.
Herz 2000; 25:200-9
57. Maisch B, Ristic A, Pankuweit S, Neubauer A, Moll R
Neoplastic pericardial effusion. Efficacy and safety of intrapericardial treatment with cisplatin.
Eur Heart J 2002 Oct;20:1625-31
58. Maisch B, Ristic AD
Practical aspects of the management of pericardial disease
Heart. 2003; 89:1096-103
59. Maisch B, Ristic AD, Hufnagel G, Pankuweit S
Pathophysiology of viral myocarditis: the role of humoral immune response.
Cardiovasc Pathol 2002; 2:112-22
60. Maisch B, Ristic AD, Pankuweit S
Intrapericardial treatment of autoreactive pericardial effusion with triamcinolone; the way to avoid side effects of systemic corticosteroid therapy.
Eur Heart J 2002; 19:1503-8
61. Maisch B, Ristic AD, Rupp H, Spodick DH
Pericardial access using the PerDUCER and flexible percutaneous pericardioscopy.
Am J Cardiol 2001; 11:1323-6
62. Maisch B, Ristic AD, Seferovic PM
New directions in diagnosis and treatment of pericardial disease. A project of the Taskforce on Pericardial Disease of the World Heart Federation
Herz 2000; 25:769-80

63. Maisch B, Ristic AD.
The classification of pericardial disease in the age of modern medicine
Curr Cardiol Rep 2002; 1:13-21
64. Maisch B, Schönian U, Bittinger A
Increased diagnostic sensitivity of epimyocardial biopsy in comparison to endomyocardial biopsy in perimyocarditis
Eur Heart J 1994; 15 Suppl A:948
65. Maisch B, Schönian U, Herzum M, Hufnagel G
Immunoserologic and immunohistologic studies of myocarditis and pericarditis
Internist 1995; 36:448-57
66. Maisch B, Seferovic PAM, Ristic AD, Adler Y, Erbel R, Reimmüller R, Thiene G, Tomkowski W, Yacoub MH:
Guidelines on the diagnosis and management of pericardial diseases. Executive summary.
Eur Heart J 2004; 3: 1-24
67. Martinoni A, Cipolla CM, Civelli M, Cardinale D, Lamantia G, Colleoni M, DeBraud F, Susini G, Martinelli G, Goldhirsh A, Fiorentini C
Intrapericardial treatment of neoplastic pericardial effusions
Herz. 2000; 25:787-93
68. Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y, Sasayama S
Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy
Br Heart J 1994; 72:561-6
69. Matsushima K, Oppenheim JJ
Interleukin 8 and MCAF: novel inflammatory cytokines inducible by IL 1 and TNF
Cytokine 1989; 1:2-13
70. Meyers DG, Meyers RE, Prendergast TW
The usefulness of diagnostic tests on pericardial fluid
Chest 1997; 111:1213-21.
71. Miller MD, Krangel MS
Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines
Crit Rev Immunol 1992; 12:17-46
72. Mistchenko AS, Maffey AF, Casal G, Kajon AE
Adenoviral pericarditis: high levels of interleukin 6 in pericardial fluid
Pediatr Infect Dis J 1995; 14:1007-9
73. Mockenhaupt T, Reschke M, Bogner E, Reis B, Radsak K
Structural analysis of the US-segment of a viable temperature sensitive human cytomegalovirus mutant
Arch Virol 1994; 137:161-9.

74. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A
Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor
Annu Rev Immunol 2001; 19:683-765
75. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R
Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows
Science 1976; 193:1007-1110
76. Mosmann TR
Regulation of immune responses by T cells with different cytokine secretion phenotypes: role of a new cytokine, cytokine synthesis inhibitory factor (IL10)
Int Arch Allergy Appl Immunol 1991; 94:110-5
77. Mukaida N
Interleukin-8: an expanding universe beyond neutrophil chemotaxis and activation
Int J Hematol 2000; 72:391-8
78. Naito T, Ohtsuka M, Ishikawa H, Satoh H, Hasegawa S
Clinical significance of cytokine measurement in pleural effusion (Abstract)
Kekkaku 1997 Oct; 72(10):565-72
79. Nakamura H, Yamamura T, Umemoto S, Fukuta S, Shioi T, Matsumori A, Sasayama S, Matsuzaki M
Autoimmune response in chronic ongoing myocarditis demonstrated by heterotopic cardiac transplantation in mice
Circulation 1996; 94:3348-54
80. Navarro S, Debili N, Bernaudin JF, Vainchenker W, Doly J
Regulation of the expression of IL-6 in human monocytes
J Immunol 1989; 142:4339-45
81. Nawroth PP, Bank I, Handley D, Cassimeris J, Chess L, Stern D
Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin 1
J Exp Med 1986; 163:1363-75
82. Neumann DA, Lane JR, Allen GS, Herskowitz A, Rose NR
Viral myocarditis leading to cardiomyopathy: do cytokines contribute to pathogenesis?
Clin Immunol Immunopathol 1993; 68:181-90
83. Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Richardt G, Holzapfel H, Jochum M, Schomig A
Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction
Circulation 1995; 92:748-55

84. Nigro G, Bastianon V, Colloridi V, Ventriglia F, Gallo P, D'Amati G, Koch WC, Adler SP
Human parvovirus B19 infection in infancy associated with acute and chronic lymphocytic myocarditis and high cytokine levels: report of 3 cases and review
Clin Infect Dis 2000; 31:65-9
85. Nishio R, Matsumori A, Shioi T, Ishida H, Sasayama S
Treatment of experimental viral myocarditis with interleukin-10
Circulation 1999; 100:1102-8
86. Okura Y, Yamamoto T, Goto S, Inomata T, Hirono S, Hanawa H, Feng L, Wilson CB, Kihara I, Izumi T, Shibata A, Aizawa Y, Seki S, Abo T
Characterization of cytokine and iNOS mRNA expression in situ during the course of experimental autoimmune myocarditis in rats
J Mol Cell Cardiol 1997; 29:491-502
87. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K
Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family
Annu Rev Immunol 1991; 9:617-48
88. Pankuweit S, Portig I, Eckhardt H, Crombach M, Hufnagel G, Maisch B
Prevalence of Viral Genome in Endomyocardial Biopsies from Patients with Inflammatory Heart Muscle Disease
Herz 2000; 25:221-6
89. Paul WE, Seder RA
Lymphocyte responses and cytokines
Cell 1994; 76:241-51
90. Permanyer-Miralda G, Sagrista-Sauleda J, Soler-Soler J
Primary acute pericardial disease: a prospective series of 231 consecutive patients
Am J Cardiol 1985; 56:623-30
91. Piiparinen H, Vaheri A
Genotyping of herpes simplex viruses by polymerase chain reaction
Arch Virol 1991; 119:541-8.
92. Porcel JM, Gazquez I, Vives M, Perez B, Rubio M, Rivas MC
Diagnosis of tuberculous pleuritis by the measurement of soluble interleukin 2 receptor in pleural fluid
Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4:975-9
93. Porte HL, Janecki-Delebecq TJ, Finzi L, Metois DG, Millaire A, Wurtz AJ
Pericardoscopy for primary management of pericardial effusion in cancer patients.
Eur J Cardiothorac Surg. 1999;16:287-91

94. Ristic AD, Seferovic PM, Petrovic P
Pericardiocentesis feasibility and safety revisited: Improvement with simultaneous right ventricular and puncturing needle contrast injections
J Am Coll Cardiol 1999; 32 Suppl A:516A
95. Robak E, Sysa-Jedrzejowska A, Stepień H, Robak T
Circulating interleukin-6 type cytokines in patients with systemic lupus erythematosus
Eur Cytokine Netw 1997; 8:281-6
96. Rot A
Endothelial cell binding of NAP-1/IL-8: role in neutrophil emigration
Immunol Today 1992; 13:291-4
97. Ruddle NH
Tumor necrosis factor (TNF- α) and lymphotoxin (TNF- β)
Curr Opin Immunol 1992; 4:327-32
98. Salefsky M
Über die Häufigkeit und Ätiologie entzündlicher Perikarderkrankungen aufgrund des Obduktionsbefundes eines Dezeniums unter besonderer Berücksichtigung der urämischen Perikarditis
Diss, Freiburg 1974
99. Schönian U, Crombach M, Maisch B
Assessment of cytomegalovirus DNA and protein expression in patients with myocarditis
Clin Immunol Immunopathol 1993; 68:229-33
100. Seferovic PM, Ristic AD, Maksimovic R
Pericardial biopsy: Technical aspects, diagnostic value and complications
In: Seferovic PM, Spodick DH, Maisch B, eds., Maksimovic R, Ristic AD, as-soc.eds. Pericardiology: Contemporary answers to continuing challenges. Belgrade: Science, 2000:171 –90.
101. Seferovic PM, Ristic AD, Maksimovic R, Petrovic P, Ostojic M, Simeunovic S, Zamaklar D, Simeunovic D, Spodick DH
Initial clinical experience with PerDUCER device: promising new tool in the diagnosis and treatment of pericardial disease
Clin Cardiol 1999; 22 Suppl 1:I30-5
102. Seino Y, Ikeda U, Minezaki KK, Funayama H, Kasahara T, Konishi K, Shimada K
Expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat cardiac myocytes
J Mol Cell Cardiol 1995; 27:2043-51

103. Shikama N, Terano T, Hirai A
A case of rheumatoid pericarditis with high concentrations of interleukin-6 in pericardial fluid
Heart 2000; 83:711-2
104. Shioi T, Matsumori A, Sasayama S
Persistent expression of cytokine in the chronic stage of viral myocarditis in mice
Circulation 1996; 94:2930-7
105. Smith SC, Allen PM
Neutralization of endogenous tumor necrosis factor ameliorates the severity of myosin-induced myocarditis
Circ Res 1992; 70:856-63
106. Spits H, de Waal Malefyt R
Functional characterization of human IL-10
Int Arch Allergy Immunol 1992; 99:8-15
107. Springer TA
Adhesion receptors of the immune system
Nature 1990; 346:425-434
108. Teshigawara K, Wang HM, Kato K, Smith KA
Interleukin 2 high-affinity receptor expression requires two distinct binding proteins
J Exp Med. 1987; 165:223-38
109. Torrance DJ
Demonstration of subepicardial fat as an aid in the diagnosis of pericardial effusion or thickening
Am J Roentgenol 1955;74:850-5
110. Tsang TS, Barnes ME, Hayes SN, Freeman WK, Dearani JA, Butler SL, Seward JB
Clinical and echocardiographic characteristics of significant pericardial effusions following cardiothoracic surgery and outcomes of echo-guided pericardiocentesis for management: Mayo Clinic experience, 1979-1998.
Chest 1999; 116:322-31
111. Tsang TS, Freeman WK, Sinak LJ, Seward JB
Echocardiographically guided pericardiocentesis: evolution and state-of-the-art technique
Mayo Clin Proc 1998; 73:647-52
112. Tsang TS, Seward JB, Barnes ME
Outcomes of primary and secondary treatment of pericardial effusion in patients with malignancy
Mayo Clin Proc 2000; 75:248-53.

113. Ucla C, Roux-Lombard P, Fey S, Dayer JM, Mach B
Interferon gamma drastically modifies the regulation of interleukin 1 genes by
endotoxin in U937 cells
J Clin Invest 1990; 85:185-91
114. Vaitkus PT, Herrmann HC, LeWinter MM
Treatment of malignant pericardial effusion
JAMA 1994; 272:59-64
115. Vassalli P
The pathophysiology of the tumor necrosis factor
Annu Rev Immunol 1992; 10:411-452
116. Voss SD, Leary TP, Sondel PM, Robb RJ
Identification of a direct interaction between interleukin 2 and the p64 interleu-
kin 2 receptor gamma chain
Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90:2428-32
117. Wada H, Saito K, Kanda T, Kobayashi I, Fujii H, Fujigaki S, Maekawa N, Ta-
katsu H, Fujiwara H, Sekikawa K, Seishima M
Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) plays a protective role in acute viral-
myocarditis in mice: A study using mice lacking TNF-alpha
Circulation 2001; 103:743-9
118. Ward PA, Seekamp A, Mulligan MS
In vivo relationship between cytokines and adhesion molecules
Intensiv Care Med 1994; 20:20-25
119. Warnatz H, Ruschen S, Lemm G
Interleukin-1 in the pathogenesis of chronic polyarthritis
Med Klin 1990; 85:302-7
120. Webb AC, Collins KL, Auron PE, Eddy RL, Nakai H, Byers MG, Haley WM,
Shows TB
Interleukin-1 (IL-1) gene assigned to long arm of human chromosom 2
Lymphokine Res 1986; 5:77-85
121. Young HA, Hardy KJ
Role of interferon-gamma in immune cell regulation
J Leukoc Biol 1995; 58:373-81
122. Zeman RK, Scovern H
Intrapericardial steroids in treatment of rheumatoid pericardial tamponade
Arthritis Rheum 1977; 20:1289-90

7. Anhang

7.1. Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen / Herren:

In Marburg: Arnold, Aumüller, Barth, Basler, Baum, Bertalanffy, Bien, Daut, Fruhstorfer, Gemsa, Gotzen, Gressner, Griss, Gröne, Grzeschik, Happle, Hasilik, Hilgermann, Hoffmann, Huffmann, Joseph, Kälble, Kern, Klenk, Klose, Koolman, Lang, Lennartz, Lorenz, Maisch, Mennel, Moosdorf, Mueller, Oertel, Radsak, Remschmidt, Rothmund, Schäfer, Schachtschabel, Seitz, Slenczka, Steiniger, Sturm, Vohland, Voigt, Walter, Wagner, Weihe, Wesemann, v. Wichert

In Göppingen: Allmendinger, Eisele, Milewski, Giesler, Hanel, Hettenbach, Kurrle, Schaudig, Sigel, Spranger, Ulrich, Wölfel

7.2. Danksagung

Für die Möglichkeit der Promotion und Überlassung des Themas danke ich Herrn Prof. Dr. B. Maisch, Direktor der Klinik für Innere Medizin, Schwerpunkt Kardiologie der Philipps-Universität Marburg.

Für die hervorragende Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanke ich mich bei Frau Dr. S. Pankuweit.

Mein besonderer Dank für die freundliche Unterstützung während des experimentellen Teils dieser Arbeit gilt allen Mitarbeitern und MTA des Kardiologisch-immunologisches Spezialroutinelabors, insbesondere Herrn Dr. V. Ruppert und Herrn E. Mayer.